



UNIVERSIDAD DE JAÉN

**FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE
LA SALUD**

TESIS DOCTORAL
**EPIDEMIOLOGÍA DE LA HEPATITIS C EN LA
PROVINCIA DE JAÉN. INFLUENCIA DE ARN
VIRAL Y GENOTIPO**

**PRESENTADA POR:
MERCEDES TERCERO LOZANO**

**DIRIGIDA POR:
DR. D. MANUEL RUIZ BAILÉN
DR. D. EDMUNDO BAEYENS CABRERA**

JAÉN, 14 DE MARZO DE 2013

ISBN 978-84-8439-723-6



UNIVERSIDAD DE JAÉN

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS DOCTORAL

EPIDEMIOLOGIA DE LA HEPATITIS C EN LA
PROVINCIA DE JAÉN. INFLUENCIA DEL
ARN VIRAL Y GENOTIPO

Jaén, diciembre 2012

Tesis doctoral:

**EPIDEMIOLOGIA DE LA HEPATITIS C EN LA
PROVINCIA DE JAÉN. INFLUENCIA DEL ARN VIRAL Y
GENOTIPO**

Los directores:


Prof. Dr. Manuel Ruíz Bailén

Dr. Edmundo Baeyens Cabrera

**Tesis presentada para optar al Grado de Doctor por la Universidad de
Jaén, por la licenciada:**

MERCEDES TERCERO LOZANO

D. Manuel Ruiz Bailén, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, Doctor por la Universidad de Jaén. Médico especialista en Medicina Intensiva y Facultativo Especialista de Área en Medicina Intensiva en la Unidad Clínica de Gestión de Cuidados Críticos y Urgencias del Complejo Hospitalario de Jaén. Profesor Asociado del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén.




CERTIFICA que: **D^a. Mercedes Tercero Iozano**, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Murcia, ha realizado con mi dirección en el Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén, los trabajos de investigación correspondientes a la Tesis Doctoral titulada: ***“EPIDEMIOLOGÍA DE LA HEPATITIS C EN LA PROVINCIA DE JAÉN: INFLUENCIA DE ARN VIRAL Y GENOTIPO”***.

El que suscribe ha revisado personal y exhaustivamente el citado trabajo y lo encuentra adecuado para su presentación y para someterlo al superior juicio del Tribunal correspondiente.

Fdo.: Prof. Dr. D. Manuel Ruiz Bailén.

Jaén, diciembre 2012

D. Edmundo Baeyens Cabrera, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, Médico Especialista en Aparato Digestivo y Director de la Unidad Clínica de Gestión de Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario de Jaén.



CERTIFICA que: **D^a. Mercedes Tercero Lozano**, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Murcia, ha realizado bajo mi dirección, la Tesis Doctoral titulada: ***“EPIDEMIOLOGÍA DE LA HEPATITIS C EN LA PROVINCIA DE JAÉN: INFLUENCIA DE ARN VIRAL Y GENOTIPO”***.

Habiendo revisado minuciosamente el citado trabajo, lo encuentra adecuado para su presentación y para someterlo al superior juicio del Tribunal correspondiente.

Fdo.: Dr. D. Edmundo Baeyens Cabrera

Jaén, diciembre 2012

The seal of the University of Jaén is a circular emblem. It features a central shield divided into four quadrants. The top-left quadrant contains a grid of nine circles. The top-right quadrant shows a rampant lion. The bottom-left quadrant depicts a castle with three towers. The bottom-right quadrant contains a grid of circles, with the bottom row consisting of five circles of varying sizes. Above the shield is a cross. The shield is surrounded by a circular border containing the Latin text 'VNIERSITAS GIENNENSIS' in capital letters.

Memoria realizada por D^a. Mercedes Tercero Lozano para optar al grado académico de doctor en Medicina y Cirugía.

Fdo.: D^a. Mercedes Tercero Lozano

Jaén, diciembre de 2012



DEDICATORIA

A mis **padres**, por su amor, entrega y sacrificio, ya que sin ellos no habría conseguido ser lo que soy hoy.

A mi **hermano**, por su constante apoyo y cariño.

A mi **pareja**, por su enorme paciencia.

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta tesis doctoral me gustaría hacer mención especial a una serie de personas sin cuyo apoyo y colaboración este trabajo no podría haberse llevado a cabo.

En primer lugar, agradecer sinceramente al **Dr. Manuel Ruiz Bailén**, como director de esta tesis el tiempo, dedicación, paciencia, conocimientos y apoyo constantes en la lenta elaboración de este trabajo. Sin su saber estar y esfuerzo, esto no habría sido posible. Es todo un ejemplo a seguir, tanto a nivel científico como profesional, que merecen toda mi admiración y respeto. Pero sobre todo y por encima de todo, me ha permitido descubrir a una gran persona.

De igual modo, agradecer al **Dr. Edmundo Baeyens Cabrera** por ser la primera persona que me alentó y me orientó en la elaboración de esta tesis doctoral, sin cuyo apoyo y conocimientos esto no podría haberse llevado a cabo. Además, de ser un gran maestro y el haber influido de una manera tan generosa en mi vida profesional, quisiera también agradecerle su paciencia, su continua disponibilidad, sus buenos consejos y por encima de todo el permitirme regresar a Jaén. Muchas gracias, por apostar por mí.

A **mis compañeros de trabajo** de la Unidad de Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario de Jaén, donde me he formado como especialista y con quienes tantos buenos momentos comparto.

Finalmente, no quiero olvidar a todas aquellas personas que directamente o indirectamente han participado en la realización de este estudio, agradeciéndoles su colaboración y su aliento.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.

A continuación se describen las abreviaturas y los acrónimos utilizados en este manuscrito.

AASLD: American Association for the Study of Liver Disease.

Anti-VHC: Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ADVP: Adicto a drogas vía parenteral.

AgHBs: Antígeno de superficie de la hepatitis B.

ALT: Alanino aminotransaminasa.

AMA Anticuerpos antimitocondriales.

ANA: Anticuerpos antinucleares.

Anti LKM 1: Anticuerpos antimicrosomales de hígado y riñón.

APRI: AST to platelet ratio index.

APRICOT: AIDS Pegasys® Ribavirin International Co-infection Trial.

ARFI: Acoustic Radiation Force Impulse.

ARN: Ácido ribonucleico.

ASMA: Anticuerpos anti músculo liso.

AST: Aspartato aminotransferasa.

CEH: Células estrelladas del hígado.

CHC: Carcinoma hepatocelular o hepatocarcinoma.

EASL: European Association for the Study of the Liver.

EE.UU: Estados Unidos de América.

EIA: Enzimoimmunoanálisis.

EHNA: Esteatohepatitis no alcohólica.

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay o Enzimo inmunoensayo.

ET: Elastografía de transición uni-dimensional.

EUROHEP: European Concerted Action on Viral Hepatitis.

FRW : Factor reumático de Waldestrom.

GAG: Glucosaminoglicanos.

GOT: Transaminasa glutámico oxalacética o AST: Aspartato aminotransferasa.

GPT: Transaminasa glutámico pirúvica o ALT: Alanino aminotransaminasa.

GGT: Gammaglutamil transpeptidasa.

HAI: Histological activity index o índice de actividad histológica.

HCB: Hepatitis crónica B.

HCC: Hepatitis crónica C.

HDL: High Density Lipoprotein. Lipoproteína de alta densidad.

HLA: Antígeno leucocitario humano.

HOMA: Homeostasis Model for Assesment.

HVPG: Hepatic Venous Pressure Gradient.

I.C: Intervalo de confianza.

Ig: Inmunoglobulina.

IL: Interleucina.

IMC: Índice de masa corporal.

INR: Internacional Normalizad Ratio.

IRES: Internal ribosome entry sites.

ISDR: Región determinante de la sensibilidad al interferón.

LDL: Lipoprotein Down Density. Lipoproteína de baja densidad.

MCP: Proteína Quimioatrayente Monocitos.

MEC: Matriz extracelular.

MELD: Model for End Stage Liver Disease.

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.

NS: No significativo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: Odds Ratio o Razón de Ventajas u oportunidades.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

Peg-IFN: Interferón pegilado.

PKR: Región protein-kinasa.

RI: Resistencia a la insulina.

RIBA: Técnicas de inmunotransferencia recombinante.

RNM: Resonancia nuclear magnética.

ROC: Receiver Operator Characteristic.

ROS: Reactive oxygen species.

RR: Riesgo Relativo.

TC: Tomografía computerizada.

TGF- β : Factor transformador de crecimiento beta.

TIPS: Shunt Portosistémico Intrahepático Transyugular.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

U.I: Unidades Internacionales.

UNOS: United Network for Organ Sharing.

VHA: Virus de la hepatitis A.

VHB: Virus de la hepatitis B.

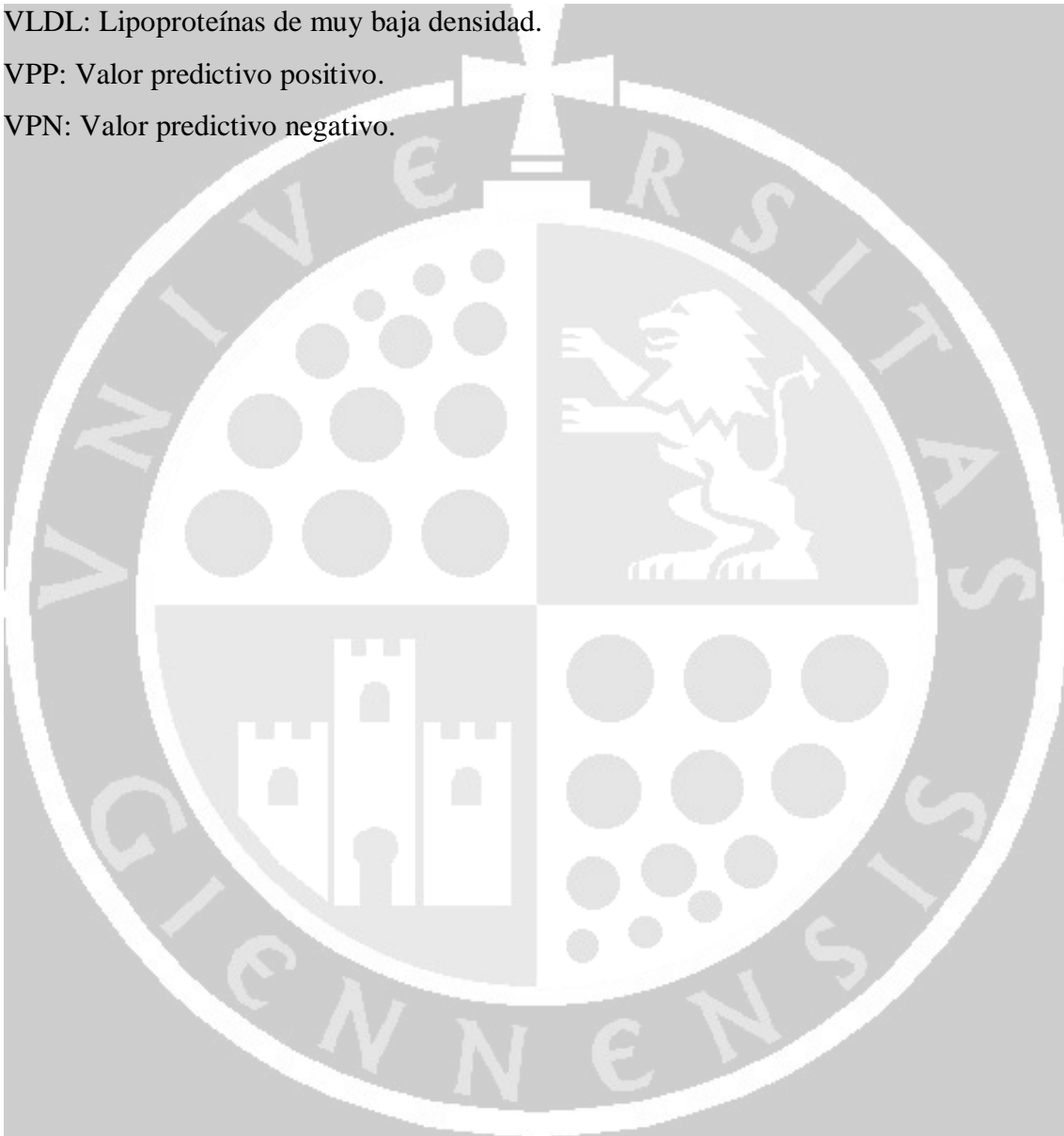
VHC: Virus de la hepatitis C.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1.

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad.

VPP: Valor predictivo positivo.

VPN: Valor predictivo negativo.



INDICE.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN..... 23

• Epidemiología: Incidencia de la hepatitis C.....	25
• Virología: Características estructurales. Variabilidad genómica. Implicaciones de la variabilidad genética del VHC.....	28
• Métodos serológicos y moleculares para el diagnóstico y manejo de la infección por virus C.....	34
• Mecanismos y prevención de la transmisión del virus C.....	40
• Historia natural y situaciones clínicas de la hepatitis C.....	46
Hepatitis aguda.....	46
Hepatitis crónica.....	47
Cirrosis hepática.....	48
Hepatocarcinoma.....	52
• Progresión de la fibrosis y factores relacionados.....	53
Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática.....	53
Factores relacionados con la progresión de la fibrosis.....	56
• Valoración del grado de fibrosis hepática.....	68
Biopsia hepática.....	69
Técnicas de imagen.....	74
Elastografía de transición.....	74
Métodos serológicos y bioquímicos.....	78
• Justificación del estudio.....	84

CAPITULO II. OBJETIVOS..... 89

CAPITULO III. METODOLOGÍA..... 93

• Tipo o diseño del estudio.....	95
• Población de estudio o diana.....	95

- Población de referencia o ámbito del estudio..... 95
- Periodo de estudio..... 96
- Criterios de inclusión y exclusión..... 96
- Variables del estudio..... 97

Variables dependientes o resultado..... 97

Variables independientes..... 101

- Análisis estadístico..... 104
- Estrategia de búsqueda bibliográfica..... 106
- Motor de búsqueda bibliográfica..... 107
- Presentación de citas bibliográficas e imágenes..... 107
- Apoyo informático utilizado..... 108
- Normas éticas..... 108

CAPÍTULO IV. RESULTADOS..... 109

- Análisis descriptivo..... 111
 - Variables dependientes o resultado..... 111
 - Variables independientes..... 117
- Desarrollo de fibrosis hepática significativa..... 158
 - Análisis univariante de las variables cualitativas..... 158
 - Análisis univariante de las variables cuantitativas..... 165
 - Análisis multivariante..... 181
- Desarrollo de cirrosis hepática..... 183
 - Análisis univariante de las variables cualitativas..... 183
 - Análisis univariante de las variables cuantitativas..... 190
 - Análisis multivariante..... 204
- Desarrollo de hepatocarcinoma..... 207
 - Análisis univariante de las variables cualitativas..... 207
 - Análisis univariante de las variables cuantitativas..... 214
 - Análisis multivariante..... 221

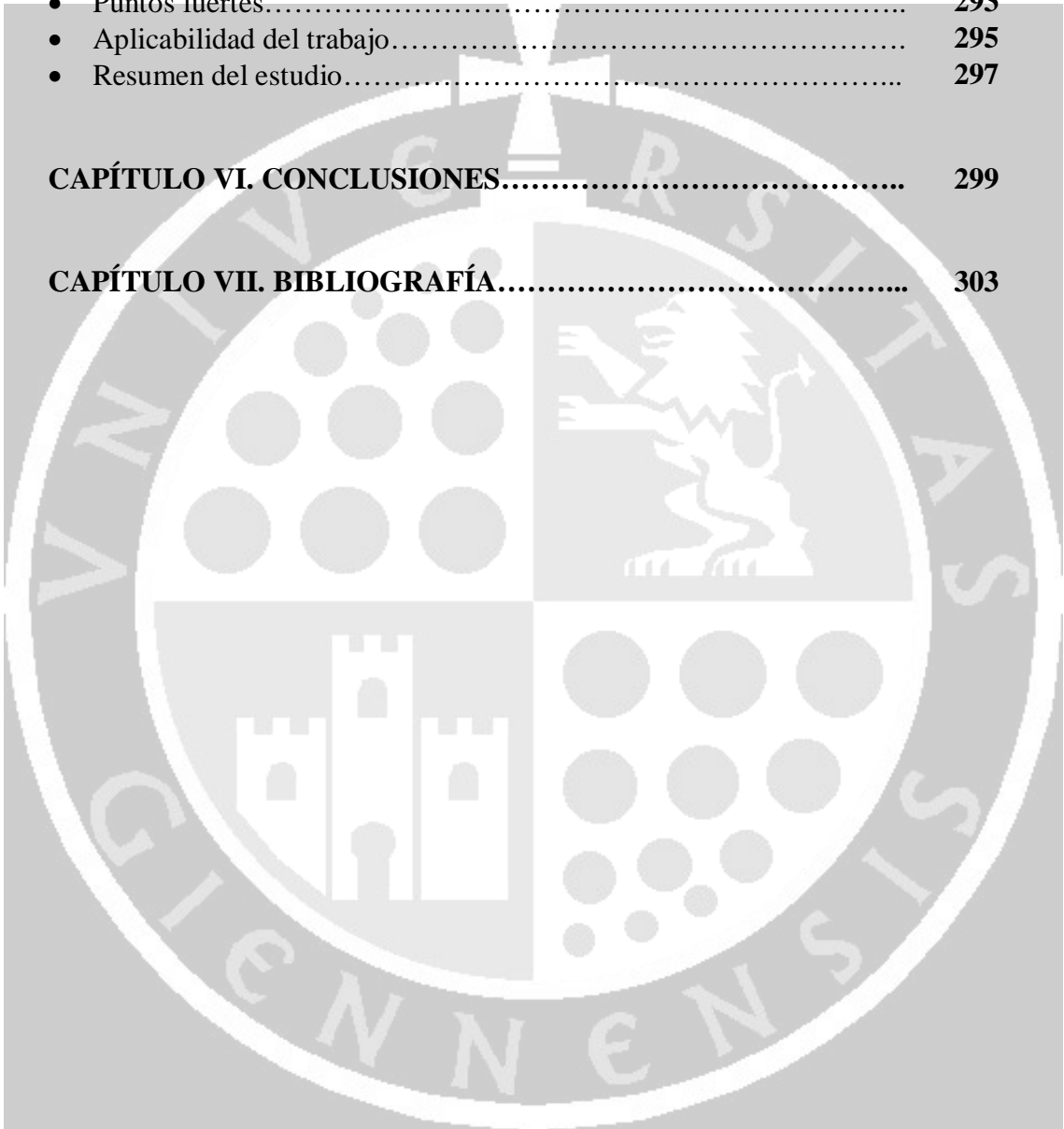
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN..... 223

- Frecuencia de hepatitis crónica C en la población de referencia..... 225

- Características epidemiológicas, virológicas y analíticas de estos pacientes..... 228
- Grado de fibrosis de los sujetos incluidos..... 231
- Desarrollo de fibrosis hepática..... 243
- Desarrollo de cirrosis hepática..... 281
- Desarrollo de hepatocarcinoma..... 287
- Limitaciones..... 292
- Puntos fuertes..... 293
- Aplicabilidad del trabajo..... 295
- Resumen del estudio..... 297

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES..... 299

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA..... 303



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN.

El virus de la hepatitis C (VHC) constituye la causa principal de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC), así como la indicación más común para el trasplante hepático. El VHC pertenece a la familia vírica de Flaviviridae y es el único miembro del género Hepacivirus. El genoma está compuesto por una única cadena lineal de ácido ribonucleico (ARN) con sentido positivo de una longitud aproximada de 9.600 nucleótidos que codifica la síntesis de 11 proteínas. La rápida replicación viral y la ausencia de un sistema corrector de errores en el ARN polimerasa son responsables de la variabilidad genómica del VHC, variabilidad que, al menos en parte, explicaría la persistencia de la infección.

El porcentaje de infección crónica está influido por la edad del paciente, el sexo, la etnia y la respuesta inmunológica. Un 85% de las personas infectadas progresará a la cronicidad. El porcentaje de progresión a cirrosis es variable y depende de varios factores, entre ellos la edad en el momento de la infección el alcoholismo, la constatación de actividad necroinflamatoria en la biopsia y la coinfección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis B (VHB). Un 20 % de las personas infectadas evolucionará a cirrosis dentro de los primeros 20-25 años; y el riesgo de desarrollo de CHC se sitúa en el 1-4% anual¹.

EPIDEMIOLOGÍA.

Aunque la incidencia de la infección ha disminuido, se estima que 170 millones de personas están infectadas por el VHC, lo que equivale aproximadamente a un 3 % de la población mundial². En Estados Unidos, la prevalencia de anticuerpos contra el VHC (anti-VHC) es del 1,6 %, es decir, unos 4,1 millones de habitantes infectados por el VHC, de los que, 3,2 millones (1,3 %) presentan infección crónica³. La **figura 1** muestra la distribución estimada a nivel mundial de la población infectada por VHC⁴.

En el norte de Europa la enfermedad se transmite principalmente por adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) con una prevalencia general entre 0,1 y 1%. En estos países la mayor prevalencia de infecciones ocurre entre los adultos de entre 30 y 50 años de edad. En Europa Central la prevalencia del VHC es intermedia, desde el 0,2% en los Países Bajos, un 0,9% en Bélgica, un 0,6% en Alemania hasta el 1,2% en Francia. En el sur de Europa (es decir, España, Italia, Grecia y el sur de Francia), la prevalencia oscila en general entre el 2,5 y 3,5%. En estos países, una epidemia inicialmente de naturaleza iatrogénica condujo a una alta prevalencia de la infección en las personas mayores, seguido, unos 30 años más tarde, por una propagación de la infección entre los más jóvenes debido al consumo de drogas intravenosas. En los

países del Este de Europa los datos epidemiológicos en la población general son limitados. En una revisión de la epidemiología del VHC en esta zona, se comunicó una alta prevalencia de la infección (0,9% a 5%) entre los donantes de sangre, personal sanitario (1-10%) y en determinados grupos de alto riesgo (50 a 92% en hemofílicos; 13-48% en pacientes sometidos a hemodiálisis). La transmisión nosocomial hospitalaria parecía desempeñar un papel importante en la infección por el VHC (40% a 70% de casos prevalentes). La incidencia de la hepatitis C aguda (2,2 - 9 casos por 100.000 habitantes) aumentó a mediados de 1990 entre las personas de entre 15 y 29 años, como resultado de la epidemia del uso de drogas intravenosas que ya había comenzado en varios de los países del Este⁵.

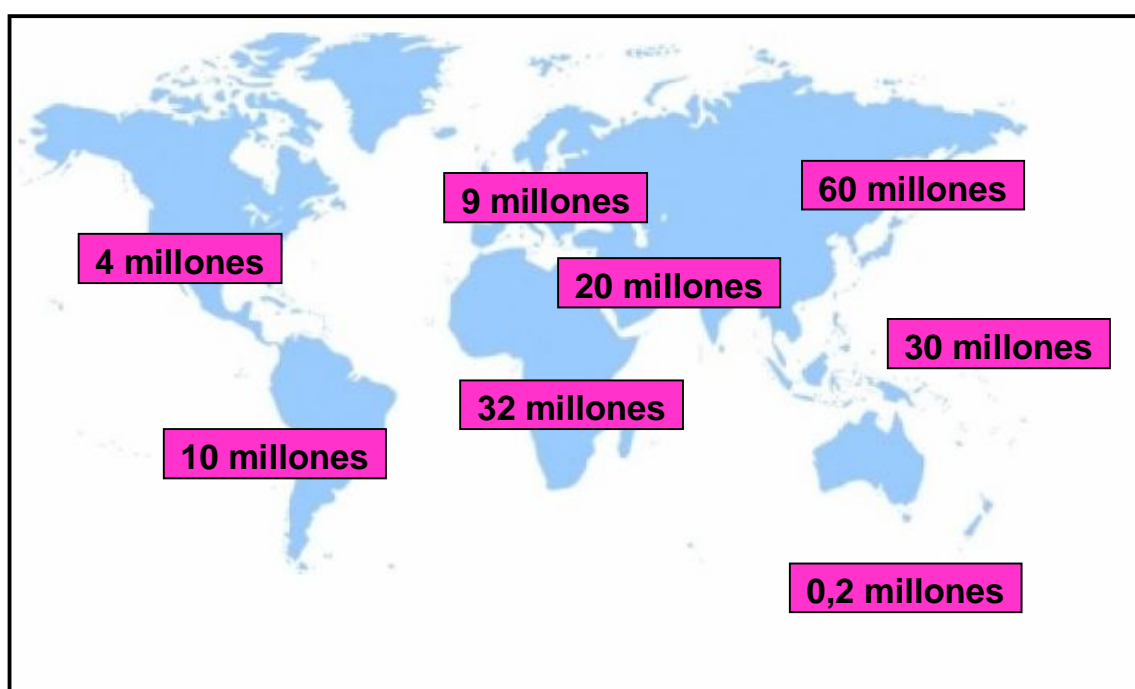


Figura 1. Distribución estimada a nivel mundial de la población infectada por VHC⁴ (reproducido con permiso).

En España, la prevalencia de anticuerpos frente al VHC oscila, como ya hemos señalado entre el 1 y el 2,6%, claramente superior a la observada en los países centroeuropeos, pero similar o inferior a la encontrada en el norte de Italia (3,2-4,8%). Teniendo en cuenta que aproximadamente el 75% de los sujetos con anticuerpos frente al VHC son virémicos, se puede estimar que la prevalencia de infección activa por el VHC se situaría entre el 1,2 y el 1,9%, de modo que el número de personas infectadas en España por el VHC estaría entre 480.000 y 760.000. En la población de menos de 20 años la prevalencia es muy baja y a partir de los 30 años va aumentando en relación con la edad. Presos, vagabundos, adictos a drogas vía parenteral, y personas con hemofilia

tratados con factores de la coagulación antes de 1992, son quienes presentan las tasas más elevadas de infección, entre un 40 y un 98%. Algunas poblaciones de inmigrantes tienen una prevalencia elevada de infección por el VHC, como los asiáticos y los subsaharianos, mientras que los procedentes de Latinoamérica presentan tasas más bajas que la población autóctona⁶.

Incidencia de la hepatitis C.

Los datos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, que proceden de las notificaciones voluntarias que hacen los médicos responsables, muestran una reducción progresiva en España, durante los últimos 7 años, de los casos de hepatitis no A no B (seguramente C), cuya incidencia anual ha pasado de 6,82 por 100.000 habitantes en 1997 a 2,3 en 2003, lo que representa una disminución del 66%. Esta reducción progresiva de la incidencia de hepatitis podría atribuirse a la disminución de algunos de los factores de riesgo de transmisión del VHC en España, como la drogadicción intravenosa. Si aceptásemos que sólo se declara el 20% de los casos de hepatitis virales agudas a los servicios de vigilancia epidemiológica, podríamos estimar que el número anual de casos de hepatitis aguda C con expresión clínica en España sería del orden de 4.600 por año. La falta de centros centinelas para estudios epidemiológicos no permite de momento conocer mejor la incidencia real de la hepatitis C en nuestro país⁶.

La distribución porcentual de los genotipos del VHC en la población española infectada muestra un predominio muy acentuado del genotipo 1, especialmente del 1b, que viene a representar más del 70% de todos los casos. El genotipo 3 sería el segundo en cuanto a frecuencia, representando entre el 12 y el 17% de los casos. Los genotipos 2 y 4 se dan con una frecuencia mucho menor, entre el 1 y el 3% el genotipo 2 y entre el 2 y el 7% el genotipo 4⁶.

La infección crónica por el VHC es una causa muy importante de morbilidad y mortalidad. En España la HCC representa la primera causa de cirrosis hepática, antes que el consumo excesivo de alcohol. Los pacientes con cirrosis por el VHC constituyen el 50% de los que requieren un trasplante hepático y el 70-80% de los que padecen un CHC. También es responsable de un coste económico elevado, en parte por la atención médica directa de los pacientes con enfermedad hepática, y en parte por los costes del tratamiento farmacológico⁶.

En los próximos años es previsible que siga la tendencia a la reducción del número de casos nuevos de hepatitis C. Sin embargo, los casos de enfermedad hepática crónica por el VHC atendidos por el sistema sanitario público seguramente aumentarán, en parte como consecuencia del reconocimiento en los centros de atención primaria de casos de hepatitis crónica asintomática y, en parte, por la descompensación de cirrosis latentes que todavía no se han diagnosticado. También es previsible un aumento del número de casos de hepatocarcinoma y de trasplante hepático por hepatopatía por VHC.

VIROLOGÍA.

Características estructurales.

Es un virus RNA, de polaridad positiva, con un genoma de 9,5 Kb, y un tamaño que oscila entre 55 y 65 nm. Tiene una cápside proteica, una envuelta, y taxonómicamente se encuentra encuadrado en los Flavivirus, aunque hoy día se considera un nuevo género, *Hepacivirus*. Como luego veremos, presenta una serie de genotipos, subtipos y cuasiespecies.

El genoma (**figura 2**) contiene un marco abierto de lectura único de, aproximadamente, 3000 aminoácidos, flanqueado por regiones no traducidas altamente conservadas, denominadas 5' y 3'UTR. De las dos, la región 5' es la mejor conservada, la que menos varía, con analogías superiores al 98%, y cuya principal función es permitir la unión del ribosoma de las células hospedadoras al RNA vírico en la estructura conocida como IRES (*internal ribosome entry sites*)^{7,8}.

El marco de lectura presenta dos regiones: una estructural y otra no estructural. La primera es capaz de codificar las proteínas de la cápside (C) y las glicoproteínas (gp) 31 y gp70 (E1 y E2) de la envuelta. Entre las regiones E1 y E2 se encuentra la zona denominada HVR1 (hipervariable) que permite al virus su escape del sistema inmunitario y, por lo tanto, su capacidad de influencia en la aparición de infecciones persistentes y de fracasos terapéuticos. La segunda región, no estructural, codifica para toda una serie de enzimas con acción proteasa, helicasa, RNA-polimerasa dependiente de RNA, etc. Dentro de esa región, es importante reseñar el papel de NS3 y, sobre todo, NS5 por presentar ésta el sitio de unión a la PKR (protein-kinasa) y la zona ISDR (región determinante de la sensibilidad al interferón), ambas implicadas en los fenómenos de variabilidad y resistencia al tratamiento^{7,8}.

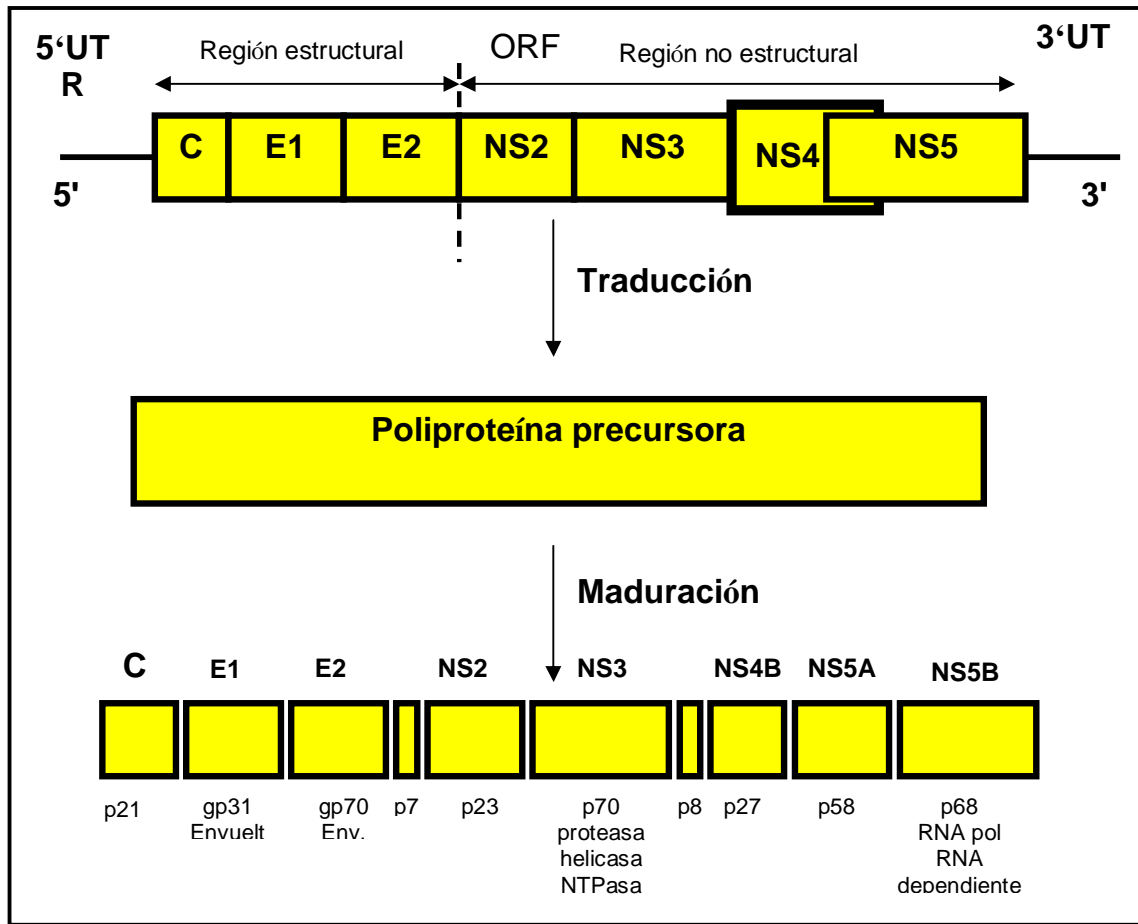


Figura 2. Representación esquemática del genoma del ARN del VHC. Reproducido de Hoofnagle JH⁸ y bajo licencia de "John Wiley and Sons".

Variabilidad genómica del VHC.

De entre los virus de interés en patología humana, el VHC es uno de los virus con un mayor grado de diversidad genética que se han estudiado hasta el momento. La heterogeneidad genética que presenta puede ser intragenoma, dando lugar a las cuasiespecies víricas, e intergenómica, que da lugar a los genotipos y subtipos.

La elevada cinética de replicación viral y la baja fidelidad de la enzima responsable de la replicación (la RNA polimerasa dependiente de RNA) son los dos principales factores que explican la elevada variabilidad genética de este virus. El virus tiene una vida media de 2,5 h en sangre y existe una alta producción diaria de partículas virales (10^{12}) en los pacientes con infección crónica; la cinética de replicación viral es, por lo tanto, superior incluso a la del VIH. En segundo lugar, la enzima que se encarga de la replicación tiene una tasa de error aproximada de 10^{-4} . Desgraciadamente no existen modelos experimentales para el cultivo del virus, lo que dificulta la obtención de datos aunque, siguiendo el modelo propuesto para el VIH, la probabilidad de una mutación puntual será del orden de 10^{-4} y de una mutación doble de 10^{-11} , lo que se traducirá en la

producción diaria de, aproximadamente, 3.300 virus distintos al virus parenteral. De este modo, será fácil comprender que la población que infecta a un individuo es una mezcla muy heterogénea de genomas muy relacionados entre sí, con una homología superior al 98%, y que se denominan cuasiespecies, siendo responsables de la variabilidad intragenoma⁷⁻¹⁰.

Recientemente, un equipo de investigadores ha estimado que el virus parental del que se originaron todas las variantes que hoy existen apareció hace, al menos, 2000 años. Si aplicamos los datos de cinética de replicación, de tasa de error de la enzima y de probabilidades de mutación, podremos entender como en todos estos años se han ido seleccionando variantes tan diversas que alcanzan un grado de diferencias en el ácido nucleico suficiente como para hablar no ya de variantes dentro de un mismo genoma, sino de variaciones intergenoma. En efecto, un modelo experimental en chimpancés (tomando muestras en la fase aguda de la infección experimental y en la fase crónica, 8 años y medio después) ha demostrado que la tasa de mutación (secuenciando genomas completos en ambas muestras) es de aproximadamente $1,44 \cdot 10^{-3}$ sustituciones por año, datos que apoyan la hipótesis anterior de que la diversidad genética existente en el VHC es el resultado de la acumulación de mutaciones durante los últimos dos milenios⁹.

La variabilidad intergenoma da lugar a los conceptos de genotipo, subtipo y aislado. Se denominan genotipos a aquellos genomas cuyo grado de homología se encuentra entre el 66- 69%; se designan con un número arábigo y, hasta el momento, se han descrito 6 genotipos mayores y hasta 11 genotipos distintos. Dentro de un mismo genotipo, cuando el grado de homología se encuentra entre el 77-80% se habla de subtipo; se designan con una letra, que seguirá al número que nombra al genotipo; hasta la fecha se han descrito más de 100 subtipos distintos. Dentro de un mismo subtipo, se denomina aislado a aquellos genomas en los que el grado de homología no es superior al 91-95%^{7,9}. La **tabla 1** muestra los porcentajes de homología y la nomenclatura de las variantes del VHC⁹.

CATEGORÍAS	HOMOLOGÍAS (%)
Genotipo	66-69
Subtipo	77-80
Aislado	91-95
Cuasiespecies	>98

Tabla 1. Homología y nomenclatura de las variantes del VHC. Reproducido de Hoofnagle JH⁸ y bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

Existen pacientes infectados por más de un genotipo o subtipo, lo que se denomina infección mixta. En un mismo paciente sólo se han descrito por el momento variantes intragenoma, y no variantes intergenoma, lo que quiere decir que no se ha demostrado el cambio de genotipo o de subtipo. Según esto, si tenemos en cuenta la tasa de mutación anual del VHC, podemos deducir que para que en un mismo hospedador se pudiera originar el cambio de subtipo desde el virus parenteral deberían pasar al menos 50-60 años. Todo esto puede cambiar en el futuro, si se confirman los datos recientes que describen el primer caso de recombinación intergenotipo en el VHC⁹.

Implicaciones de la variabilidad genética del VHC.

Las diferentes implicaciones de la variabilidad del VHC aparecen reflejadas en la patogenicidad, en el diagnóstico, en los fenómenos de resistencia al tratamiento, así como en la epidemiología del este virus.

Importancia en la patogenicidad.

a) *En la gravedad de la infección.* Un hecho hasta hace muy poco tiempo aceptado era que las infecciones por los genotipos 1b evolucionaban más fácilmente hacia la cirrosis y el hepatocarcinoma. Recientemente, en la Conferencia de Consenso de los *National Institutes of Health* norteamericanos de junio de 2002 se cuestiona si existe realmente esa correlación, por lo que no deberá utilizarse como marcador virológico absoluto. Se ha demostrado que la región HVR1 del VHC contiene ciertos epítomos que podrían seleccionar mutantes capaces de escapar al sistema inmune. En general, podemos decir que existe un alto número de cuasiespecies en función de la gravedad del proceso y que las hepatitis agudas resolutivas tienen un número de cuasiespecies menor que las crónicas activas. Por otra parte, se ha comprobado que en el genotipo 1b es más frecuente encontrar hepatitis B oculta (ADN positiva, antígeno de superficie de la hepatitis B [AgHBs] negativa) y con una peor respuesta al interferón. Igualmente estaría relacionado con hepatitis fulminante⁹.

b) *En las manifestaciones extrahepáticas.* Existen numerosos estudios que asocian la infección por el VHC con la crioglobulinemia, aún cuando no es bien conocida su relación con los diferentes genotipos. En cualquier caso, una alta variabilidad podría ser responsable de ciertas manifestaciones autoinmunes como la ya citada, la presencia de autoanticuerpos, etc⁸.

c) *En la aparición de hepatocarcinoma.* El gen de la PKR (proteína mayor inducida por el interferón), se considera un supresor de tumores, controlador de la homeostasis y del crecimiento celular. En ciertas condiciones la interacción de PKR con la zona NS5 del virus lleva consigo la inactivación de aquella, lo que facilitaría el desarrollo del hepatocarcinoma.

Importancia en el diagnóstico.

a) *En el diagnóstico serológico*: la mayoría de las técnicas utilizadas como cribado se fabricaban a partir de proteínas del genotipo 1, lo que pudo conducir a una falta de sensibilidad. De hecho se demostró que la mayoría de las muestras con resultados indeterminados mediante ensayos suplementarios de segunda generación correspondían a genotipos 2, 3, 4 y 5, por lo que el diagnóstico en los pacientes con estos genotipos puede ser menos eficiente, sobre todo en áreas en las que los genotipos más prevalentes estén filogenéticamente distanciados del prototipo 1a y se empleen ensayos de segunda generación. De todos modos, estos problemas se han solucionado casi en su totalidad con los ensayos de tercera generación (tanto de cribado como suplementarios), que son los más utilizados en la actualidad¹¹.

b) *En los métodos moleculares*: hay que destacar que los métodos de detección de RNA deben emplear cebadores dirigidos a la amplificación de la región 5'UTR; en caso contrario, se pueden dejar de detectar variantes virales dadas la elevada heterogeneidad de otras regiones del genoma. Asimismo, los ensayos de cuantificación vírica pueden verse influenciados por los genotipos. Las versiones iniciales de los ensayos de cuantificación más ampliamente utilizados (Roche Amplicor® y Versant® bDNA Bayer) mostraban diferente eficacia según el genotipo. En la actualidad, dichos problemas están también prácticamente solucionados^{9,11}.

Importancia en el tratamiento.

Éste es, sin duda, uno de los apartados en los que existe mayor acuerdo en la importancia que el genotipo ejerce. La indicación, la duración y la dosis de ribavirina (RBV) a emplear en el tratamiento combinado con interferón pegilado (Peg-IFN) se deciden según el genotipo. Mientras que la respuesta al tratamiento está claramente ligada al genotipo, el papel de los subtipos es menos claro.

Por último, se ha propuesto por parte de algunos grupos la existencia de una relación entre el número de cuasiespecies virales y la respuesta al tratamiento. De este modo, y según estos autores, el número de cuasiespecies estaría inversamente relacionado con la respuesta al tratamiento, independientemente del genotipo y de la carga viral basal. Actualmente es muy difícil asegurar que el tratamiento seleccione las cuasiespecies virales resistentes al antivírico⁹.

Importancia en epidemiología.

a) *Variabilidad geográfica*. La historia de la epidemiología del VHC está basada en la tasa de cambios de sus secuencias nucleotídicas. Según ciertos autores, a partir de

modelos matemáticos, el primer ancestro común del VHC se remontaría a más de 2000 años, la divergencia de genotipos a 500 años, y las diferencias entre 1a y 1b a 300 años. En este momento existe una gran divergencia geográfica que se explicaría por los movimientos poblacionales, el uso de drogas por vía parenteral y la contaminación por transfusiones sanguíneas. Los genotipos más repartidos son el 1, 2 y 3, responsables de la mayoría de las hepatitis C en Europa occidental, USA y Japón. El genotipo 4 es más frecuente en África del Norte, Central y Oriente Próximo. El genotipo 5 predomina en África del Sur, y del 6 al 11 en el sudeste asiático. Se debe hacer hincapié en la importancia de la variabilidad de los genotipos según los grupos de riesgo, siendo por ejemplo más frecuentes los genotipos 1a y 3a en los usuarios de drogas por vía parenteral^{8,10}. La **figura 3** muestra la distribución geográfica actual de los principales genotipos y subtipos del VHC⁴.

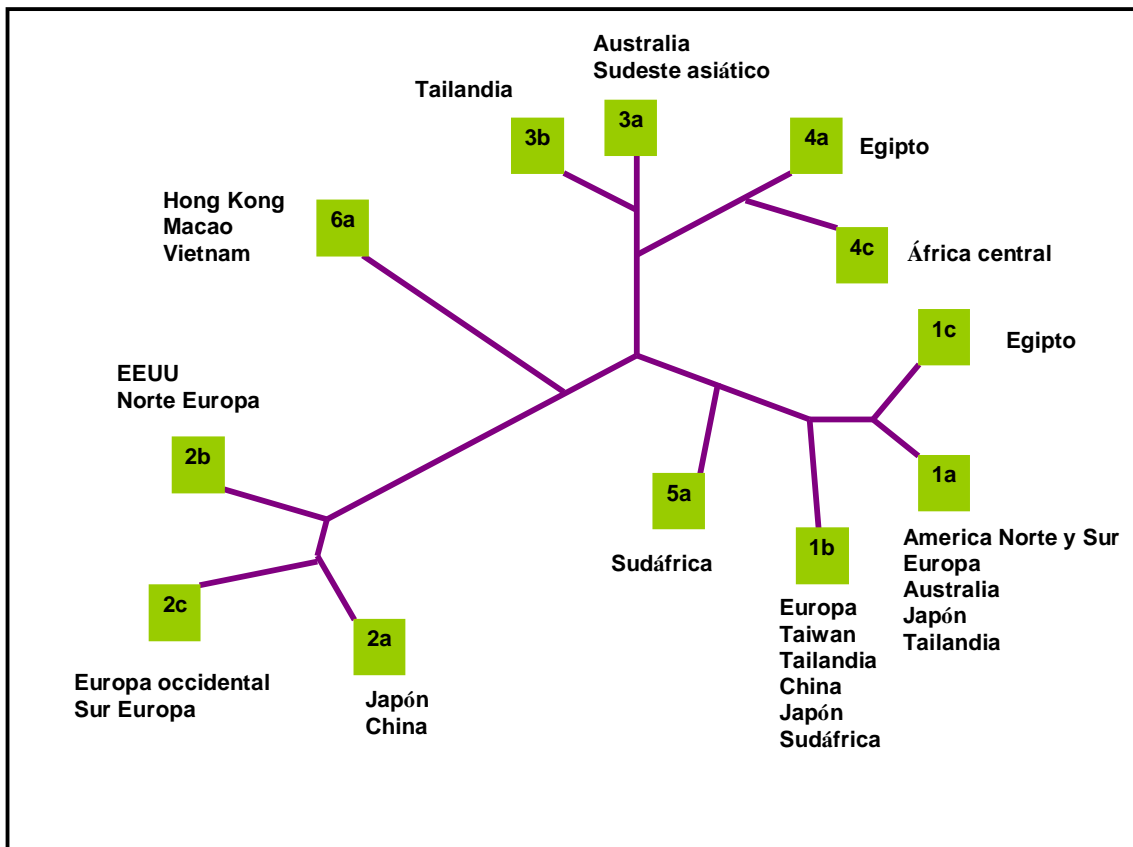


Figura 3. Distribución geográfica actual de los principales genotipos y subtipos de VHC⁴ (reproducido con permiso).

b) *Los genotipos como trazadores epidemiológicos.* El estudio de los genotipos puede ser útil para el control de migraciones o el comercio de productos sanguíneos, pero en ambos casos este tipo de estudios es poco determinante para analizar la transmisión entre individuos o para comprobar una contaminación por la misma cepa. Para eso son

necesarios estudios filogenéticos más profundos a partir de diferentes regiones (HVR1-E2), lo que nos permitiría conocer la transmisión nosocomial, sexual o maternofilial.

c) *Vacunaciones*. La gran variabilidad del VHC hace muy difícil la puesta a punto de una vacuna útil. Según diferentes estudios hechos en chimpancés, existen anticuerpos neutralizantes sólo específicos de cepa, por lo que sería necesario hacer “sopas” de antígenos que pertenecieran a diferentes cepas. Otra dificultad añadida sería la ausencia de un modelo animal (fuera del chimpancé), así como de sistemas eficaces de cultivo. No obstante, existen diferentes líneas de investigación abiertas utilizando proteínas de distintas zonas del *core* y vehiculizadas incluso por otros virus^{7,9}.

MÉTODOS SEROLÓGICOS Y MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS C.

Las primeras pruebas que permitieron diagnosticar la infección por VHC se basaban en enzimoimmunoensayos (ELISA) especialmente diseñados para la detección de anticuerpos específicos frente a determinadas proteínas víricas. Desde entonces, se han desarrollado numerosas pruebas que no solo permiten diagnosticar de una forma rápida y fiable la infección por el VHC, sino que además permiten establecer estados de replicación vírica activa, predecir y monitorizar la respuesta a los tratamientos específicos y conocer aspectos epidemiológicos y patogénicos de la infección por el VHC¹².

Pruebas serológicas.

Enzimoimmunoanálisis para anticuerpos contra virus C.

Las pruebas basadas en ELISA que detectan anticuerpos anti-VHC son las que tradicionalmente se han utilizado como pruebas de cribado de la infección por VHC; son fáciles de utilizar y el método está completamente automatizado. Estos métodos utilizan antígenos específicos del VHC obtenidos por ingeniería genética (recombinantes) o péptidos sintéticos que son fijados a micropocillos de una microplaca. Este formato permite la unión específica de los anticuerpos séricos anti-VHC (inmunoglobulina G [IgG] anti-VHC) para una posterior detección mediante una reacción enzimocolorimétrica. La lectura se realiza en un espectrofotómetro y los resultados se expresan en unidades de densidad óptica (OD), que son proporcionales a la cantidad de anticuerpos en plasma o suero^{13,14}.

Los primeros ELISA disponibles (ELISA de primera generación) utilizaban el péptido c100-3 de la región NS4 del genoma, y tenían baja especificidad como pruebas de cribado en grupos de baja prevalencia como donantes de bancos de sangre, y además detectaban de una forma muy tardía los anticuerpos anti-VHC tras una exposición a la infección por VHC. Los ELISA de segunda generación incluían otros péptidos, presentaban mejor sensibilidad y especificidad y acortaban el “periodo de ventana serológica” tras la infección aguda¹². A partir de 1996, se empiezan a emplear de forma generalizada los ELISA de tercera generación, que incluyen epítomos de la región del core y de las regiones NS3, NS4 y NS5. La sensibilidad y especificidad de estas pruebas era del 99% en pacientes inmunocompetentes. Además, los ELISA de tercera generación acortaron “el periodo de ventana serológica” en 2 o 3 semanas tras la infección aguda^{12,14}. Sin embargo, existen una serie de situaciones que limitan la utilidad como herramienta diagnóstica de la determinación de anti-VHC por ELISA: a) pueden ser falsamente negativos en pacientes inmunodeprimidos o en hemodiálisis; b) no resuelven el diagnóstico precoz en la infección aguda por el VHC (cuando se utiliza ELISA de tercera generación, el diagnóstico de infección aguda no se realiza hasta transcurridas 6-8 semanas tras la exposición al virus); c) no sirven para el diagnóstico inmediato de transmisión vertical del VHC, ya que la transferencia pasiva de IgG anti-VHC de la madre infectada al niño hace que el diagnóstico se retrase más de un año, y d) la detección de anti-VHC no tiene ningún valor pronóstico ni evolutivo de la infección y no determina el estado de replicación viral, por lo que no ofrece información sobre la resolución o la cronificación de la infección por el VHC. Los anticuerpos anti-VHC pueden persistir en los pacientes con hepatitis aguda por VHC que han curado la infección y en el 40-50 % de quienes presentaban hepatitis crónica por VHC que erradicaron el virus tras tratamiento antiviral^{12,13}. Por tanto, la determinación de anticuerpos anti-VHC mediante ELISA de tercera generación no es útil en el seguimiento de pacientes que han recibido tratamiento antiviral ni en quienes han erradicado el virus¹².

Inmunoglobulina M anti-VHC por ELISA.

Para solventar la falta de sensibilidad de las pruebas de ELISA que detectan IgG anti-VHC en el diagnóstico de infección aguda por el VHC, se desarrollaron sistemas que permiten la detección específica de anticuerpos IgM anti-VHC. Sin embargo, el hecho de que se detecten anticuerpos IgM en el 50-93% de los pacientes con infección aguda y en el 50-70% de aquellos con hepatopatía crónica por el VHC hace que este marcador sea ineficaz tanto en el diagnóstico precoz de la infección como en la diferenciación entre infección aguda y crónica por el VHC¹⁵.

Técnicas de inmunotransferencia recombinante.

Las técnicas de inmunotransferencia recombinante (RIBA) se desarrollaron como pruebas confirmatorias para resolver el problema de la falta de especificidad de los ELISA de primera y segunda generación. El RIBA se basa en la detección de anticuerpos anti-VHC del suero unidos a diferentes antígenos recombinantes fijados en una membrana de nitrocelulosa. Al igual que los ELISA, estas técnicas han evolucionado. Sin embargo, los ensayos de RIBA no aportaban ninguna información diagnóstica adicional ni confirmatoria respecto a los resultados obtenidos con las técnicas de ELISA de tercera generación. Por ello, en la actualidad la utilización de RIBA con fines diagnósticos está desaconsejada, siendo reemplazada por técnicas de diagnóstico directo de la infección determinando el ARN-VHC¹².

Técnica de detección del antígeno core del virus C.

En la actualidad, está comercializada una prueba de detección y cuantificación del antígeno (Ag) del core del VHC que puede ser utilizada, al igual que las técnicas de detección de ARN-VHC, como marcador de replicación vírica del VHC. Es una técnica de ELISA en formato de microplaca que utiliza anticuerpos monoclonales específicamente dirigidos a diferentes epítomos del Ag core del VHC presente en el suero del paciente. Diversos estudios han demostrado una buena correlación entre los niveles séricos del ARN-VHC y del Ag core del VHC, estableciéndose que 1pg/mL de Ag core equivale aproximadamente a 8000 UI/mL de ARN-VHC. Una importante limitación de esta técnica es su falta de sensibilidad: no es útil en el diagnóstico de pacientes con niveles de viremia inferiores a 20000 UI/mL de ARN-VHC, por lo que no constituye una alternativa a las técnicas de detección de ARN-VHC en la evaluación de la respuesta al tratamiento antiviral¹⁶.

Determinación serológica del genotipo del virus C.

Existen 6 genotipos víricos con una gran variedad de subtipos del VHC¹⁷. En el mundo occidental, el 70-80% de los pacientes infectados por el VHC tiene genotipo 1. La determinación del genotipo entraña un gran valor pronóstico de la respuesta al tratamiento antiviral, siendo más probable la respuesta de los pacientes infectados con los genotipos 2 y 3. Además, estos individuos requieren menor tiempo de tratamiento y menor dosis de ribavirina.

El genotipo del VHC (serotipo) puede establecerse mediante la determinación de anticuerpos dirigidos a epítomos específicos de genotipo del VHC mediante un ELISA competitivo. La prueba disponible (Murex HCV serotyping 1-6 H02, Abbott Laboratories) identifica los 6 genotipos, pero no discrimina los subtipos. Esta prueba

resulta eficaz en la identificación del genotipo en alrededor del 90 % de los pacientes inmunocompetentes infectados crónicamente por el VHC¹².

Pruebas moleculares virológicas.

Cabe distinguir entre técnicas más sensibles que permiten la detección cualitativa de ARN-VHC y otras especialmente diseñadas para la cuantificación de la concentración sérica de ARN-VHC (carga viral).

Técnicas de detección de ARN-VHC cualitativas.

Las pruebas que detectan la presencia de ARN-VHC se consideran el método de referencia en el diagnóstico de infección activa por el VHC y en la evaluación de la respuesta al tratamiento antiviral^{13,15}. La determinación del ARN-VHC cualitativo puede realizarse mediante técnicas de amplificación genómica utilizando la PCR clásica (RT-PCR: transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa) o la PCR en tiempo real (PCR real-time), o mediante técnicas de amplificación mediada por transcripción (TMA)¹⁵.

Las pruebas cualitativas ofrecen una elevada sensibilidad para detectar ARN-VHC, pueden detectar menos de 50 UI/ml de ARN-VHC y tienen igual sensibilidad para todos los genotipos de VHC¹⁵.

En la PCR clásica, el ARN-VHC se extrae y, por transcripción inversa, es transformado en ADN complementario (ADNc), que es procesado en una reacción enzimática cíclica que conduce a la generación de grandes cantidades de copias detectables¹². Existen varios formatos comerciales disponibles. El más ampliamente utilizado ha sido el Cobas Amplicor HCV v2.0 (Roche Molecular Systems), cuyo límite inferior de detección son 50 UI/mL.

Durante los últimos años se han desarrollado nuevos sistemas de amplificación basados en la PCR que combinan la reacción de amplificación con diferentes formatos de detección en un único proceso y que se denominan PCR en tiempo real. Esta tecnología permite la evaluación dinámica del producto de amplificación generado (amplicones) en cada ciclo de amplificación, y disminuye el tiempo de obtención de resultados y los riesgos de contaminación por amplicones procedentes de otras muestras¹⁵.

Con la evolución de la PCR clásica (RT-PCR) hacia estos sistemas de PCR en tiempo real, la terminología de cualitativa y cuantitativa se funde en un único concepto, ya que las pruebas de PCR en tiempo real son capaces de cuantificar el ARN-VHC. Estas pruebas son muy sensibles, con el límite bajo de detección de ARN-VHC de 10 UI/mL y límites dinámicos de hasta 10^7 UI/mL¹⁵. Están comercializadas varias pruebas: Cobas Ampliprep®, Cobas TaqMan® (CAP-CTM) HCV-Test, Roche Molecular Systems y Abbott Real Time HCV Assay, Abbott Diagnostic.

El sistema de amplificación mediada por transcripción (TMA) se basa en la amplificación de secuencias de ARN mediante la síntesis de ADN complementario y ARN utilizando una mezcla enzimática compuesta por una transcriptasa reversa y una enzima con actividad ARN polimerasa. El límite de detección de esta prueba cualitativa es de 10 UI/mL¹⁵.

Las técnicas cualitativas de ARN-VHC se utilizan fundamentalmente con fines diagnósticos: 1) diagnóstico precoz de la infección aguda, realizando el diagnóstico en menos de 1 semana de la exposición al virus; 2) diagnóstico precoz de la infección perinatal por VHC, con el fin de estudiar la transmisión vertical en recién nacidos de madres portadoras del VHC; 3) diagnóstico de la infección crónica por VHC en pacientes inmunodeprimidos con riesgo de tener la infección y que son anti-VHC negativos; 4) diagnóstico de infección crónica por VHC, ya que la presencia de anticuerpos anti-VHC con ARN-VHC es indicativa de infección crónica por VHC; por otro lado, la detección de anti-VHC en ausencia de ARN-VHC indica infección resuelta; 5) diagnóstico de confirmación de resultados positivos débiles o indeterminados en las pruebas serológicas de cribado, y 6) se utilizan en la evaluación de la respuesta terapéutica sobre todo para constatar que existe respuesta virológica persistente. Las pruebas de ARN cualitativo tienen alta especificidad (cercana al 99%), pero puede haber falsos positivos por contaminación y, aunque raras veces, también falsos negativos por defectos en la manipulación de la técnica¹³.

Técnicas de cuantificación del ARN-VHC.

La cuantificación de la carga viral es útil para identificar a aquellos pacientes menos susceptibles de responder al tratamiento antiviral y, sobre todo, para evaluar precozmente la respuesta terapéutica (semana 12 o semana 4), lo que permite tomar decisiones sobre si continuar o suspender el tratamiento o, incluso, sobre si acortarlo o prolongarlo. El ARN-VHC puede ser cuantificado por técnicas de amplificación genómica (PCR competitiva o PCR en tiempo real) o por técnicas de amplificación de señal mediante ADN ramificado (branched DNA; bDNA assay)^{15,18}. Hay cinco pruebas estandarizadas disponibles comercialmente. Dos de ellas se basan en PCR competitiva: Amplicor HCV Monitor® v2.0 y su versión semiautomatizada Cobas® Amplicor HCV Monitor® v2.0 (Roche Molecular Systems) y LCx® HCV RNA Quantitative Assay (Abbott Laboratorios). Otra prueba se basa en tecnología bDNA: Versant® HCV RNA 3.0 Assay (Bayer HealthCare). Y otras dos pruebas se basan en amplificación con PCR en tiempo real: Cobas® Taq Man HCV Test, que puede ser completada con extracción automatizada en Cobas Ampliprep (CAP-CTM, Roche Molecular Systems), y Abbott Realtime HCV assay (Abbott Diagnostics). La **tabla 2** muestra los límites dinámicos de cuantificación del ARN-VHC¹⁹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido unidades estándar de cuantificación del ARN-VHC conocidas como

unidades internacionales (UI/mL) para todas las técnicas¹⁸. Las pruebas presentan variabilidad, y se admite que variaciones de 0.5 logaritmos no tendrán significación clínica. Como se ha señalado, el estudio del ARN-VHC cuantitativo es útil para estimar si un paciente tiene probabilidad de tener una respuesta virológica persistente al tratamiento. La carga viral no parece correlacionarse con la gravedad de la lesión hepática y no es útil en el seguimiento de los pacientes que no reciben tratamiento.

Técnica	Metodología	Límite de detección UI/ml	Rango dinámico (log ₁₀ UI/ml)
Cobas Amplicor HCV v.2.0a	RT-PCR cualitativa semiautomatizada	50	NA
Versant HCV RNA qualitative Assay ^b	TMA cualitativa	10	NA
Cobas Amplicor HCV Monitor v.2.0	RT-PCR competitiva semiautomatizada	600	2,8-5,7
Versant HCV RNA 3.0 bDNA Assay ^c	Amplificación de señal por ADN ramificado	615	2,8-6,9
LCx HCV RNA Cuantitativa Assay ^c	RT-PCR competitiva semiautomatizada	25	1,4-6,4
Cobas TaqMan HCVa	RT-PCR en tiempo real semiautomatizada	10,0-25,0	1,6-7,9

Tabla 2. Técnicas estandarizadas para detección cualitativa y cuantificación de ARN de VHC en suero¹⁹ (reproducido con permiso del autor).

aRoche Molecular Systems, Branchburg, NJ; bBayer Healthcare LLC, Tarrytown, NJ; cAbbott Diagnostic, Chicago, IL.

Semiautomatizada: la reacción de amplificación, detección y cálculo de la cantidad de ARN en la muestra analizada se realizan automáticamente en una plataforma específica. Para estas técnicas están disponibles plataformas adicionales que automatizan también el proceso de extracción de ARN de la muestra.

Determinación molecular del genotipo del virus de hepatitis C.

La utilidad del estudio del genotipo entraña aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. Existen 6 genotipos virales, con una gran variedad de subtipos. El genotipo 1 aparece en el 70-80 % de la población occidental infectada, pero existen diferencias geográficas en la prevalencia de los diferentes genotipos. No parece que haya relación entre el genotipo responsable de la infección y el grado o estadio de lesión hepática. Los pacientes infectados con el genotipo 1 responden peor al tratamiento antiviral. Este hecho ha condicionado la existencia de diferentes estrategias de tratamiento en función del genotipo del VHC. Los pacientes con genotipo 2 y 3 requieren menor tiempo de tratamiento y menor dosis de ribavirina. El estudio del genotipo del VHC por técnicas moleculares se puede determinar mediante: 1) técnicas de secuenciación genómica; 2) estudio del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), y 3) hibridación inversa en tiras de nitrocelulosa²⁰. El método idóneo del genotipado es la

secuenciación directa de las regiones NS5B o E1 del genoma del VHC, seguido del alineamiento de secuencia con secuencias de referencia y análisis filogenético. Pero en la práctica clínica el genotipo del VHC puede ser determinado mediante varias pruebas comerciales. Una de ellas emplea el análisis de secuenciación directa de la región 5' no codificada (Trugene® 5'NC HCV Genotyping Kit, Bayer HealthCare). La más ampliamente utilizada es el INNO-LIPA HCV II (Innogenetics), que se basa en la hibridación inversa de la PCR a tiras de nitrocelulosa preparadas con sondas de oligonucleótidos específicas de genotipo. Los errores del genotipado son raros, pero no sucede lo mismo con la determinación de subtipos, donde pueden producirse errores en el 10-25 % de los casos, aunque no tiene trascendencia clínica porque es el genotipo lo que se tiene en cuenta para tomar decisiones terapéuticas²⁰.

MECANISMOS Y PREVENCIÓN DE LA TRANSMISIÓN DEL VIRUS C.

El VHC es transmitido por exposición percutánea de forma repetida a sangre. Se ha identificado un posible factor de riesgo en un 90% de los casos. En un 10% no se ha podido identificar la fuente de infección. Esta exposición ocurre en el contexto de uso de drogas vía parenteral, transplante de órgano sólido a partir de donantes infectados, prácticas médicas no seguras, exposición ocupacional a sangre infectada, nacimiento de un bebé a partir de madre infectada, mantener relaciones sexuales con una persona con VHC, prácticas sexuales de alto riesgo, y posiblemente el uso de cocaína vía nasal. La transmisión a través de sangre y derivados sanguíneos fue prácticamente eliminada con la introducción de test para la detección de VHC (anti-VHC) en donantes hacia 1992.

Vías de transmisión.

Entre las vías de transmisión más conocidas de la hepatitis C figuran las transfusiones, el uso de drogas por vía parenteral y la hemodiálisis como figura en la **tabla 3**. Mucho menos frecuentes son la transmisión intrafamiliar, la exposición ocupacional y otros mecanismos parenterales y casos esporádicos.

MAS FRECUENTES	MENOS FRECUENTES
Transfusiones	Transmisión vertical y via sexual
	Exposición ocupacional
Uso de drogas via parenteral	Transmisión nosocomial y personal sanitario
	Otros mecanismos parenterales
	Casos esporádicos
Hemodiálisis	Transmisión intrafamiliar

Tabla 3. Mecanismos transmisión del VHC (elaborada por el autor).

Transfusiones.

Antes de 1986 la incidencia de hepatitis C post-transfusional se situaba entre el 5-13 %. Desde 1990, al comenzar a realizarse el estudio de marcadores serológicos de VHC la incidencia de hepatitis post-transfusional disminuyó hasta hacerse menor de un 1%. Parece que la incidencia de adquisición de la infección por VHC post-transfusión está directamente relacionada con el número y cantidad de productos sanguíneos recibidos. En los países desarrollados, el cribado de la sangre y otros hemoderivados con las técnicas actuales de detección del virus y la obtención de factores de coagulación por procedimientos de recombinación genética han hecho que el contagio por transfusión sea prácticamente nulo^{21,22}.

Uso de drogas por vía parenteral.

Este colectivo de usuarios de drogas por vía parenteral (ADVP) muestra prevalencias de anti-VHC de hasta el 90 %, siendo la primera causa de infección en adultos jóvenes. Se suele adquirir al compartir jeringuillas, habitualmente en los primeros 6 meses de adicción. La vía intranasal asociada al consumo de cocaína es también una posible vía de infección.

La incidencia de anti-VHC en el colectivo de ADVP está disminuyendo en Europa y Estados Unidos por el temor al VIH y las campañas de información, pero en el este de Europa es la primera causa de infección aguda. En cuanto a prevención, aparte de los programas de intercambio de agujas y los de tratamiento de la adicción a drogas,

también son importantes la educación sanitaria y el cribado de esta población, ya que muchos pacientes desconocen que están infectados²³.

Vía sexual.

Aunque la transmisión sexual existe, parece que esta vía es poco eficaz. En cuanto a las relaciones monógamas de larga duración, en Estados Unidos (EEUU) se estima una seroprevalencia de VHC del 2 al 3% entre parejas con un miembro infectado. Parece que el riesgo de infección del VHC dentro de la pareja es mayor para la mujer que para el varón. Algunos estudios muestran que las parejas de pacientes con hepatitis crónica por virus C tienen mayor riesgo de adquirir el VHC, y éste aumenta con la mayor duración de la exposición. Aunque los datos son muy contradictorios, la mayoría de los expertos creen que en relaciones monógamas de larga duración no se recomiendan modificaciones en las prácticas sexuales, excepto durante la menstruación o si hubiera ulceraciones genitales²⁴. Aunque no se recomienda el uso de preservativo debido al bajo riesgo de transmisión, sí se debe advertir a los pacientes, de que su uso disminuye el riesgo de contagio. A pesar del bajo riesgo de contagio, parece recomendado realizar estudio de anti-VHC a las parejas de los pacientes infectados. En EEUU se estima una seroprevalencia del 4 al 6 % del VHC entre personas con múltiples parejas sexuales. Parece existir una correlación positiva entre la infección por el VHC y el número de parejas sexuales, el hecho de no utilizar preservativos, mantener relaciones sexuales vía anal, relaciones sexuales traumáticas, historia de enfermedades de transmisión sexual, y pacientes coinfectados por VIH. En estos casos se recomienda el uso de preservativo, tanto para prevenir el contagio del VHC como de otras enfermedades de transmisión sexual²³.

Transmisión vertical.

Todavía no conocemos la manera y el momento de transmisión materno-infantil. La transmisión perinatal del VHC de niños nacidos de madres positivas para anti-VHC ocurre en aproximadamente un 2% de los casos. Cuando una mujer embarazada tiene positivo el RNA el riesgo se incrementa hasta un 4-7%. La influencia del genotipo viral es discutible. La coinfección materna por el VIH es un factor de riesgo para la transmisión vertical, elevando hasta el 20% el riesgo de transmisión del VHC. No está claro si la práctica de amniocentesis o una rotura prolongada de membranas están asociadas con un mayor riesgo de transmisión materno-infantil. No hay estudios prospectivos que evalúen el uso de cesárea electiva para prevenir la transmisión al niño del VHC, por lo que dicha intervención no está recomendada en pacientes con infección por VHC, a menos que coexista infección por VIH²⁵.

Aunque el VHC puede ser detectado en el calostro materno, la lactancia materna no parece aumentar el riesgo de contagio del VHC, siempre y cuando no haya heridas a nivel de la mama. Se recomienda explicar los datos a la madre y que sea ella la que decida si dar lactancia o no.

A los niños nacidos de madres positivas para anti-VHC, se les recomienda realizar RNA de VHC a los 2 y 6 meses de vida y/o test para anti-VHC a los 18 y 24 meses. La positividad de anti-VHC previo a los 15 meses puede deberse a transferencia transplacentaria de anticuerpos de VHC. Si la madre presenta coinfección por el VIH, la cesárea parece reducir el riesgo de transmisión del VHC al recién nacido; en cambio, no está indicada en pacientes monoinfectadas por el VHC, pues no disminuye el riesgo de contagio^{25,26}.

Convivencia con una persona infectada por el virus C.

La mayoría de los estudios realizados descartan la transmisión intrafamiliar del VHC. En los casos en que se ha constatado contagio intrafamiliar, el factor de riesgo es probablemente el hecho de haber compartido algún objeto personal (maquinilla de afeitar, cepillo de dientes, instrumentos de manicura...), por lo que se recomienda utilizar utensilios de aseo propios y cubrir cualquier herida para evitar el contacto con sangre²³.

Hemodiálisis y transmisión en otras salas de hospitalización.

La prevalencia de VHC en los pacientes con insuficiencia renal crónica sometidos a hemodiálisis es de alrededor del 20 %. Aunque inicialmente se atribuyó a las transfusiones, un grupo de pacientes infectados nunca las había recibido, por lo que probablemente se habían contagiado mediante un mecanismo de transmisión paciente-paciente. En la actualidad, la mayoría de las investigaciones relacionadas con brotes de hepatitis C en las unidades de hemodiálisis indican que la transmisión ha tenido lugar por unas medidas equivocadas en el control de las infecciones. Éstas podrían evitarse mediante una adecuada higiene de las manos y desinfección de las superficies²⁷.

La transmisión del VHC que se observaba en unidades de hematología y oncología se atribuyó inicialmente a las múltiples transfusiones realizadas. Sin embargo, estudios basados en análisis filogenéticos y evidencias epidemiológicas han demostrado que existe la transmisión nosocomial no ligada a la transfusión de sangre. En un estudio prospectivo realizado en salas de hepatología de un hospital de tercer nivel, donde se evaluaron la incidencia y los mecanismos de transmisión de la hepatitis C, publicaron que los casos de infección nosocomial se producen habitualmente por un mecanismo de transmisión paciente-paciente y que no se relacionan con procedimientos cruentos²⁸.

Transmisión nosocomial y personal sanitario.

El personal sanitario (y otros profesionales como personal de limpieza o seguridad) puede sufrir contagio por punción accidental con sangre contaminada, siendo el riesgo de transmisión de aproximadamente un 1%. El caso contrario, es decir, que el profesional pueda ser el vector de transmisión a los pacientes, es muy infrecuente, y generalmente se vincula con procedimientos quirúrgicos. Para tratar de evitar la hepatitis C nosocomial, es importante observar de manera estricta las medidas de precaución universales, como el empleo de indumentaria adecuada, el lavado de manos, la esterilización o eliminación en recipientes adecuados de los productos potencialmente contaminantes, etc...En las unidades de diálisis, dada la alta prevalencia de hepatitis C y la manipulación a la que es sometido el paciente, existen unas medidas adicionales, entre las que se encuentran la realización periódica de las transaminasas y serologías víricas, así como el mantenimiento de los pacientes potencialmente infecciosos en una zona claramente delimitada de la unidad²⁹.

Por otro lado, también se han documentado casos de hepatitis C tras la endoscopia digestiva (**figura 4**), aunque son muy puntuales y podrían estar relacionados con una esterilización inadecuada del material endoscópico. Un estudio prospectivo llevado a cabo entre 1999 y 2002 incluyó a 9188 pacientes con anti VHC negativo sometidos a endoscopia y reclutados en tres unidades diferentes de endoscopia que seguían las guías internacionales de limpieza y desinfección del material endoscópico. No se trataron de forma diferente los endoscopios empleados para pacientes portadores de la hepatitis C. A los 6 meses, se pudo repetir un nuevo anti-VHC a 8260 pacientes (92%), y si éste era positivo, se realizaba una determinación del ARN del VHC, sin que se observara seroconversión en ningún caso. Estos resultados sugieren que unas medidas higiénicas adecuadas pueden llegar a evitar el riesgo de infección por el VHC, asociado a la endoscopia digestiva³⁰.



Figura 4. Realización de endoscopia con medidas adecuadas de protección. Tomada por el autor en Unidad Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario Jaén.

También se han comunicado algunos casos de hepatitis aguda C asociada a otras intervenciones médicas como maniobras dentales realizadas sin las debidas medidas higiénicas, aunque su incidencia es muy baja (1,4%).

Transmisión asociada a otros mecanismos parenterales.

En los últimos años se han detectado casos de transmisión de la hepatitis C a través de tatuajes, acupuntura o piercings realizados sin las necesarias medidas de prevención. Se recomienda no realizarlos sin tomar las adecuadas medidas de higiene.

La vía intranasal asociada al consumo de cocaína constituye una posible vía de infección. Generalmente se debe a la lesión de la mucosa producida por la cocaína y a la utilización de algún instrumento compartido para la inhalación³¹.

Casos esporádicos.

Por último, existen pacientes en los que no se identifica el mecanismo de transmisión. Un gran porcentaje de estos casos podría deberse a la utilización de inyecciones con material no desechable, práctica que era bastante frecuente hace 30-40 años. En otros se

constata un ingreso hospitalario como único factor de riesgo, lo que sugiere que el contagio podría haber sido nosocomial³¹.

Prevención secundaria.

No en todas las personas está indicado el cribado del VHC, pero si conviene realizarlo en las que presentan algún factor de riesgo. El objetivo del diagnóstico es identificar a los pacientes que pueden beneficiarse del tratamiento y educarlos sanitariamente para prevenir la propagación de la infección. Por último, se ha de recomendar la abstinencia alcohólica en todas las personas infectadas, ya que éste es el único factor controlable que influye en la progresión de la enfermedad.

Vigilancia epidemiológica.

Los casos de hepatitis aguda C son de declaración obligatoria. Se han de aportar los datos del paciente para poder rellenar una ficha epidemiológica en la que, entre otros datos, deben constar los posibles factores de riesgo. El objeto de esta ficha es evitar nuevos contagios y mejorar el control de los pacientes infectados.

HISTORIA NATURAL Y SITUACIONES CLÍNICAS DE LA HEPATITIS C.

La infección por el VHC puede manifestarse con formas clínicas muy diferentes y gravedad variable, desde formas asintomáticas de hepatitis aguda autolimitadas hasta hepatitis crónica o cirrosis y CHC con todas sus complicaciones. Además, la infección crónica con frecuencia se asocia a manifestaciones extrahepáticas, muchas de ellas de naturaleza autoinmune. La **figura 5** muestra el curso clínico de la infección por VHC.

Hepatitis aguda.

Inicialmente la infección por el VHC produce una hepatitis aguda. Los estudios prospectivos previos a 1990 pusieron de manifiesto dos características importantes: su carácter clínicamente silente y su tendencia a la cronicidad¹.

El periodo de incubación es, por término medio, de 8 semanas (límites: 2-28). Aproximadamente el 75 % de las hepatitis agudas son asintomáticas y sólo en el 25 % de los casos se desarrollan síntomas clínicos a las 3-12 semanas tras el comienzo de la infección en forma de astenia, anorexia, náuseas e ictericia. Aunque la infección aguda

puede ser grave, la forma fulminante es muy rara. En los casos autolimitados los síntomas pueden durar varias semanas.

Los niveles de transaminasas como alanino aminotransaminasa (ALT) o transaminasa glutámico pirúvica (GPT), menos prominentes que en las hepatitis agudas causadas por otros virus, empiezan a elevarse entre 2 y 8 semanas tras el inicio de la infección, y en ocasiones alcanzan niveles superiores a 10 veces el límite superior de la normalidad. El ARN-VHC puede detectarse dentro de 1-2 semanas tras la infección y sus niveles se elevan rápidamente hasta 10^5 - 10^7 UI/mL poco antes de alcanzar las GPT sus valores máximos^{1,32}.

Los pacientes con sospecha de hepatitis aguda deberán ser examinados para detectar anti-VHC (EIA) y la presencia de ARN-VHC mediante técnicas sensibles. La presencia de ARN-VHC en ausencia de anti-VHC es muy indicativa de infección aguda, lo que se confirmará por la seroconversión (desarrollo de anti-VHC) que se produce como media al cabo de 7-8 semanas tras la infección. En un porcentaje importante de pacientes, los anti-VHC son detectables al mismo tiempo que el ARN-VHC; en estos casos puede ser difícil distinguir una hepatitis aguda C de una exacerbación aguda de una HCC o de una hepatitis aguda por otra causa en un paciente con HCC. La hepatitis aguda C es muy poco probable si se detectan los anti-VHC en ausencia de ARN-VHC; sin embargo, estos pacientes deberán ser reexaminados después de unas semanas, ya que el ARN-VHC puede ser temporalmente indetectable debido a un control parcial transitorio de la replicación viral por la respuesta inmunológica. Tras el aclaración viral, los anti-VHC pueden persistir durante toda la vida.

En la fase de resolución de la hepatitis aguda los niveles de GPT y de ARN-VHC pueden fluctuar, y algunos pacientes pueden pasar fases en las que los niveles de GPT pueden normalizarse y el ARN-VHC ser indetectable. Este hecho se produce en una cuarta parte de los pacientes que desarrollan infección crónica, por lo que es necesario un seguimiento regular 6-12 meses después de la infección para averiguar si ésta se ha resuelto^{1,32}.

Entre los factores que potencialmente se asocian con la recuperación de una infección aguda por el VHC, figuran la edad inferior a 25 años, el sexo femenino, la raza blanca, la gravedad de la infección aguda y una respuesta inmunocelular eficaz; en cambio, los factores virales, como el genotipo y la viremia, no se han asociado con la aclaración viral^{1,32}.

Hepatitis crónica.

La hepatitis crónica se define por la persistencia del ARN-VHC durante un periodo superior a 6 meses tras el comienzo de la infección. La hepatitis aguda C se cura sólo en el 15 % de los pacientes, y el 85% restante desarrolla una infección crónica. De estos últimos, alrededor de un 80 % experimentará una evolución estable sin una

progresión significativa en los 20 años siguientes, mientras que un 20 % desarrollará una cirrosis en los 20-25 años siguientes a la infección; muchos de estos pacientes cirróticos continuarán progresando lentamente y alrededor de un 25 % desarrollará rápidamente descompensación de la enfermedad hepática y hepatocarcinoma. Una vez establecida la cirrosis, el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma se sitúa en el 1-4 % anual¹. Por otro lado, aproximadamente un 30 % de los pacientes con infección crónica experimenta una progresión mínima o nula de la fibrosis en 20-40 años y posiblemente aún en más tiempo. Muchos de estos pacientes nunca desarrollarán cirrosis y la gran mayoría de ellos tiene niveles de GPT persistentemente normales. Sin embargo, incluso personas con niveles elevados de GPT pueden tener lesiones histológicas leves^{32,33}.

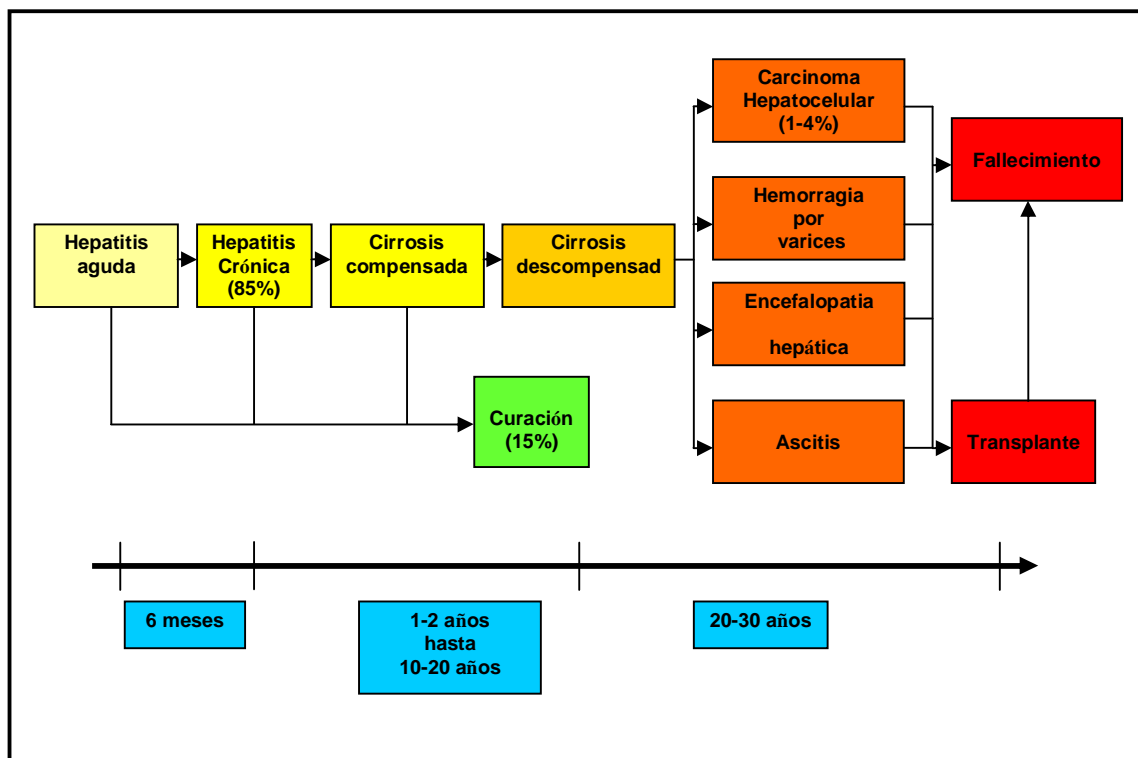


Figura 5. Curso clínico de la infección por VHC (elaborada por el autor).

Cirrosis hepática.

El concepto de cirrosis hepática es fundamentalmente morfológico. Se define como una alteración difusa de la arquitectura del hígado por fibrosis y nódulos de regeneración. Estos cambios condicionan una alteración vascular intrahepática y una reducción de la masa funcional hepática, cuyas consecuencias son el desarrollo de hipertensión portal y la aparición de insuficiencia hepática. La historia de la cirrosis hepática está caracterizada por una fase asintomática, que se le denomina cirrosis compensada, seguida de una fase rápida y progresiva de desarrollo de complicaciones secundarias a

la hipertensión portal y/o insuficiencia hepática, a esta fase se le denomina cirrosis descompensada. Una vez que el enfermo desarrolla una cirrosis hepática su pronóstico vital se ve disminuido debido a complicaciones clínicas derivadas del grado de insuficiencia hepática y a la aparición de hepatocarcinoma. Las complicaciones de la cirrosis incluyen la ascitis, la hemorragia digestiva alta ya sea por varices o por gastropatía hipertensiva, el síndrome hepatorenal y la encefalopatía hepática (**figura 6**). La supervivencia estimada a los 3,5, y 10 años en los casos de cirrosis compensada es del 96, 91 y 79 %, respectivamente. La probabilidad acumulada de presentar un episodio de descompensación clínica es del 5 % aun año vista, pero aumenta hasta el 30 % a los 10 años de diagnosticada la cirrosis. Además, un vez que ya ha habido descompensaciones, la supervivencia a los 5 años cae hasta el 50 %³⁴.

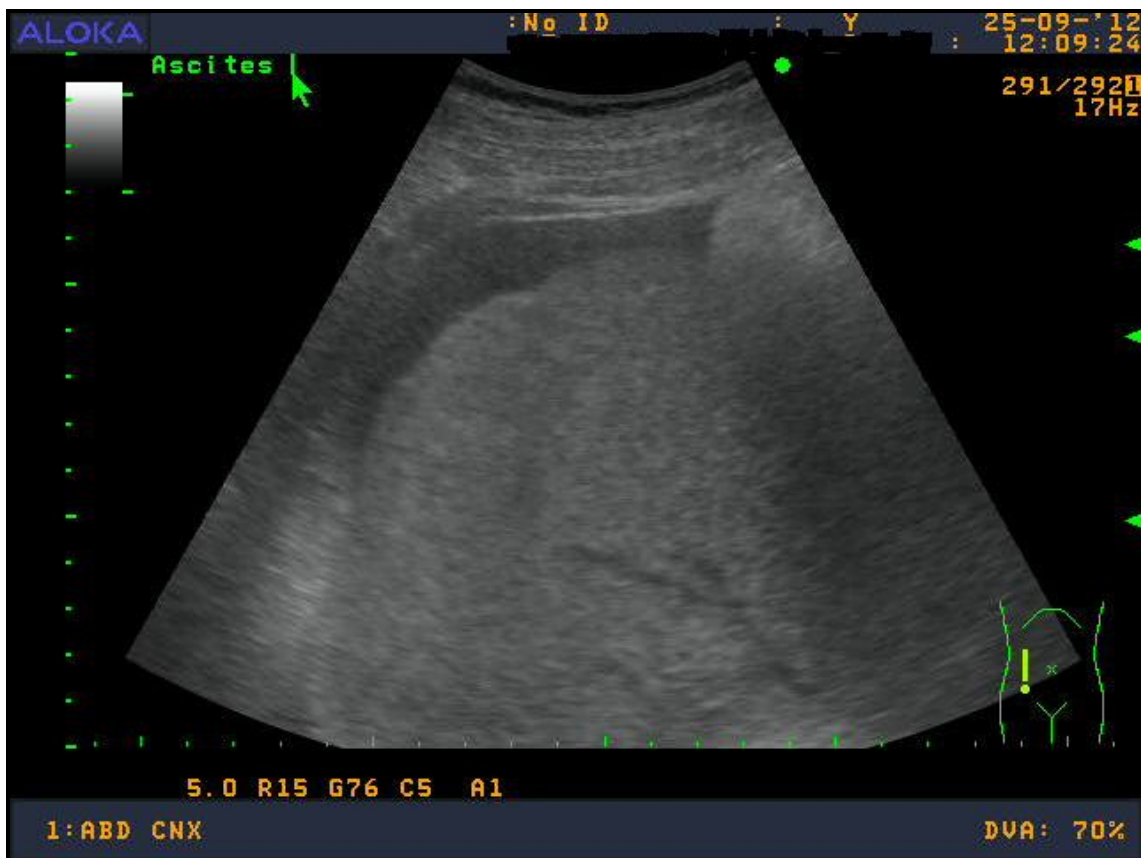


Figura 6. Imagen ecográfica de hígado cirrótico con presencia de líquido ascítico. Imagen cedida por la Unidad de Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario de Jaén.

Con el objetivo de valorar el pronóstico de la cirrosis hepática y estimar la supervivencia, el riesgo ante la cirugía o ante determinados procedimientos terapéuticos y la indicación de trasplante hepático, se han desarrollado diversos modelos o índices de

función hepática. Entre los modelos generales, la clasificación de Child-Pugh y el Model for End stage Liver Disease (MELD) son los más utilizados³⁵.

La clasificación original de Child-Turcotte y la posterior modificación de Pugh fueron propuestas para estimar el riesgo de los pacientes cirróticos sometidos a cirugía de la hipertensión portal. Aunque la elección de las variables incluidas (bilirrubina, albúmina, tiempo de protrombina, ascitis y encefalopatía hepática) y sus puntos de corte se realizaron de forma empírica, su valor pronóstico se ha demostrado en diversas situaciones^{34,35}. En función de la puntuación otorgada a cada una de las variables los pacientes se clasifican en tres grupos, de mejor a peor pronóstico: A (5-6 puntos), B (7-9 puntos) y C (10-15 puntos) (**Tabla 4**). En la **tabla 5** se detallan los resultados de una revisión sistemática sobre la supervivencia a uno y dos años asociada con los diferentes estadios³⁴. Basándonos en estos estudios, el trasplante hepático debería considerarse en los pacientes con una puntuación Child-Pugh superior o igual a 7. Pese a sus conocidas limitaciones, su facilidad de cálculo hace que se siga utilizando ampliamente en la práctica clínica³⁶.

Variable	1 punto	2 puntos	3 puntos
Bilirrubina sérica (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albúmina sérica (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
Actividad de protrombina			
Prolongación (segundos)	<4	4-6	>6
-Quick (%)	>50	40-50	<40
-INR	<1,7	1,7-2,3	>2,3
Ascitis	No	Ligera o moderada (responde a diuréticos)	Tensa (resistente a diuréticos)
Encefalopatía hepática	No	Grados 1-2 (inducida por precipitantes)	Grados 3-4 (crónica)

Tabla 4. Clasificación de Child-Pugh³⁵. Reproducido bajo licencia de "Elsevier".

Estadio A: 5-6 puntos; **estadio B:** 7-9 puntos; y **estadio C:** 10-15 puntos. INR: International Normalized Ratio.

Estadio	Supervivencia a un año		Supervivencia a dos años	
	Media	Límites (rango intercuartil)	Media	Límites (rango intercuartil)
A	95%	75-100% (90-98%)	90%	70-100% (85-96%)
B	80%	63-99% (73-88%)	70%	50-96% (58-82%)
C	45%	15-95% (33-68%)	38%	8-90% (21-52)

Tabla 5. Supervivencia asociada a los estadios de Child-Pugh³⁴. Reproducido bajo licencia de "Elsevier".

El modelo MELD fue desarrollado inicialmente en la Clínica Mayo con el objetivo de identificar a los pacientes con cirrosis hepática y supervivencia inferior a tres meses tras la colocación de un *shunt* portosistémico intrahepático transyugular (TIPS). Seleccionadas mediante un análisis de regresión de Cox, este modelo pronóstico incluyó originalmente cuatro variables: bilirrubina, INR del tiempo de protrombina, creatinina y etiología de la cirrosis. Los mismos autores validaron la utilidad del modelo para predecir la mortalidad precoz en diversas categorías de cirróticos y pacientes incluidos en lista de espera para trasplante hepático. Desde febrero de 2002 el modelo MELD es utilizado en Estados Unidos por la *United Network for Organ Sharing* (UNOS) para priorizar a los pacientes en lista de espera para trasplante hepático, y ha tenido una gran aceptación. La etiología de la cirrosis dejó de tenerse en cuenta en los cálculos tras comprobarse que no influye en la capacidad predictora del MELD³⁷.

$$MELD = [9,57(\ln \text{ creatinina mg/dl})] + [3,78(\ln \text{ bilirrubina mg/dl})] + [11,2(\ln \text{ INR})] + 6,43$$

La complejidad de su fórmula hace que para calcularlo se precise un ordenador o una agenda electrónica. El resultado se da en una escala continua, de mejor a peor pronóstico, entre 6 y 40, y los pacientes con un MELD igual o superior a 15 son los que más se beneficiarían del trasplante hepático en términos de supervivencia.

El debate sobre la utilización de la clasificación de Child-Pugh o la puntuación MELD para la valoración pronóstica de la cirrosis hepática sigue abierto. En una revisión sistemática se concluye que el MELD no puede considerarse superior a la clasificación de Child-Pugh en la estimación del pronóstico en los pacientes cirróticos, tanto en los incluidos en lista de espera para trasplante hepático como en los que se encuentran en otra situación. También conviene recordar que, como se menciona en un reciente editorial, cualquier modelo pronóstico no puede sustituir, pese a su indudable utilidad, al juicio clínico³⁸.

Hepatocarcinoma.

El CHC es la neoplasia primaria de hígado más frecuente. Su incidencia se ha incrementado mundialmente y datos recientes indican que en España también se ha asistido a un aumento significativo de su detección³⁹.

Es bien conocido que más del 80 % de los sujetos afectados de CHC presentan una cirrosis hepática subyacente y que en la actualidad el hecho de que se desarrolle CHC supone la principal causa de muerte en sujetos con cirrosis. Teniendo en cuenta que la única posibilidad de aplicar tratamientos con intención curativa es diagnosticando la enfermedad en una fase inicial, asintomática, y dado que esta posibilidad es únicamente factible si se efectúa cribado de la población en riesgo, se recomienda explorar periódicamente a los sujetos con cirrosis mediante ecografía abdominal.

Los datos referentes a la velocidad del crecimiento tumoral y a la progresión hasta un tamaño detectable mediante técnicas de imagen son limitados. Series antiguas indican que el tiempo para doblar el volumen tumoral oscila entre 2 y 4 meses y estos resultados aportan la base racional para efectuar cribado cada 6 meses. En Japón, se recomienda un intervalo de 3 a 4 meses y algunos autores mantienen que los sujetos de alto riesgo deberían examinarse más frecuentemente. No obstante, no hay datos que demuestren que el mayor riesgo se asocia a una mayor velocidad de crecimiento tumoral. Por tanto, se considera que el intervalo recomendado debe ser cada 6 meses⁴⁰.

Las técnicas de cribado de CHC pueden dividirse en radiológicas y serológicas. La prueba radiológica más usada es la ecografía abdominal. Se trata de una técnica no invasiva, aceptada por la población, con una sensibilidad del 60 al 80 % y una especificidad superior al 90 % para la detección precoz de CHC. Además, se dispone de una estrategia diagnóstica bien definida tras la detección de un nódulo sospechoso de CHC. Por tanto, la ecografía abdominal realizada por personal experto es actualmente la técnica de cribado más adecuada para la detección precoz de CHC⁴¹. Con el objeto de asegurar el conocimiento y la experiencia para efectuar cribado basado en ecografía, es fundamental establecer programas de formación para certificar la capacitación a fin de llevar a término esta actividad. La realización de tomografía computerizada (TC) como técnica de cribado debe desaconsejarse por el riesgo asociado a la irradiación así como por motivos de coste y eficacia, y de menor disponibilidad. También este aspecto afecta a la resonancia nuclear magnética (RNM). Respecto a las pruebas serológicas, se disponen en la actualidad de una multitud de marcadores tumorales. El más evaluado ha sido la alfafetoproteína (AFP) que hasta hace poco tiempo era la única herramienta disponible. Sin embargo, la AFP ha mostrado un bajo rendimiento diagnóstico, dado que sus valores en muchos casos son normales en tumores iniciales y es bien sabido que los sujetos con cirrosis hepática pueden presentar elevaciones transitorias de AFP en ausencia de CHC. Los análisis retrospectivos que evalúan el rendimiento diagnóstico

mediante curvas de eficacia diagnóstica han mostrado que el punto de corte óptimo para el cribado es de 20 ng/ml; estas ofrecen una sensibilidad aproximada del 60 %. Sin embargo, cuando se consideran estudios prospectivos, en los que específicamente se evalúa el rendimiento diagnóstico de las pruebas de cribado, la AFP con el mismo punto de corte muestra una sensibilidad inferior al 25 % y una especificidad del 79 %. Además, no se dispone de ningún estudio que establezca qué incremento de AFP debe llevar a sospechar un CHC si la ecografía es negativa. En este sentido, estudios en explantes demuestran que puede no haber CHC, aunque la AFP supere 500 ng/ml. Por último, hay una correlación entre valores de AFP y estadio tumoral, donde la AFP simplemente es un marcador de enfermedad avanzada. Por tanto, la AFP no es una herramienta de cribado eficaz y debe desaconsejarse su uso. Se han propuesto otros marcadores, como la fracción de AFP ligada a lectina, des-gamma-carboxi protrombina o el glicican-3, pero presentan los mismos defectos que la AFP y, en general, no pueden competir con la fiabilidad de la ecografía⁴².

PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS Y FACTORES RELACIONADOS.

La HCC se caracteriza por una lenta progresión de la fibrosis hepática desde un estadio 0 hasta el desarrollo de cirrosis (estadio 4) a un ritmo aproximado de 0,10-0,15 unidades de fibrosis/año por década. Sin embargo, este porcentaje de progresión varía entre las distintas poblaciones, motivo por el cual se han examinado los factores asociados con la progresión de la fibrosis.

Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática.

Uno de los cambios histológicos más característico de las hepatopatías inflamatorias crónicas es la fibrosis. Consiste en un aumento muy marcado de los componentes de la llamada matriz extracelular (MEC) como consecuencia de un desequilibrio entre su formación y degradación, y en respuesta a agresiones muy diversas, incluido el abuso de alcohol, las hepatitis virales como el VHC, los tóxicos, la obstrucción biliar o las acumulaciones de hierro o cobre, entre otros. En la fibrosis hepática no sólo aumenta la cantidad de MEC, sino que también cambia su composición. Se trata de una lesión que tiene importantes repercusiones fisiopatológicas. Por un lado, contribuye a aumentar las resistencias al flujo sanguíneo intrahepático y a generar hipertensión portal. A ello contribuyen también las células estrelladas del hígado (CEH), que cuando se activan adquieren capacidad contráctil⁴³.

Por otro lado, la MEC depositada en el espacio subendotelial contribuye a activar las CEH, reduce las fenestraciones de las células endoteliales y representa una barrera que se interpone entre la sangre de los sinusoides y los hepatocitos, y dificulta los intercambios de metabolitos y nutrientes que normalmente existen entre ellos. En contra de lo que pudiera pensarse, se trata de una estructura extraordinariamente dinámica y dotada de una intensa actividad metabólica.

Hay abundantes pruebas que indican que los componentes de la MEC influyen tanto sobre la función de los hepatocitos como sobre la de las CEH y las endoteliales. A ello también contribuye el hecho de que la MEC representa un reservorio de factores de crecimiento y de citocinas⁴⁴.

La MEC del hígado está compuesta por 3 tipos diferentes de moléculas: *a)* colágenos; *b)* glucoproteínas, y *c)* proteoglicanos.

Los *colágenos* I y III son particularmente abundantes en los septos del hígado fibroso. Cuando la fibrosis no es muy intensa, la proporción de ambos tipos de colágeno es similar. Sin embargo, cuando la fibrosis es intensa, el colágeno dominante es el del tipo I. Su aspecto es compacto y tiene tendencia a la retracción. El colágeno V, de disposición pericelular en el hígado normal, representa el 10% del total existente en el hígado cirrótico, y se distribuye preferentemente por los septos fibrosos y los espacios portales. El colágeno IV es muy escaso en el hígado normal y se localiza principalmente en las membranas basales de los sinusoides.

La fibronectina, una glucoproteína de la MEC, está formada por 2 polipéptidos unidos entre sí por un puente de disulfuro. En su molécula hay puntos de unión con los colágenos, el fibrinógeno, los proteoglicanos y las integrinas de las superficies celulares, por lo que se considera que juega un papel muy importante como factor de cohesión entre todos los componentes de la MEC. En la fibrosis hepática, su producción está muy aumentada y su aparición precede a la de los restantes componentes de la MEC. Las lamininas son glucoproteínas de alto peso molecular que forman parte fundamental de las membranas basales. Están constituidas por 3 cadenas de polipéptidos entrelazadas y dispuestas en forma de espada o cruz. Forman polímeros tridimensionales porosos a los que se anclan otros componentes de la MEC, se entremezcla con el colágeno IV y a él se fijan citocinas.

Los proteoglicanos constituyen un grupo heterogéneo de proteínas formadas por un eje proteico al cual se unen 2 o más cadenas de glucosaminoglicanos (GAG). Los proteoglicanos juegan un papel muy importante en la comunicación intercelular y en las relaciones existentes entre las células y la MEC⁴⁵.

Aunque es posible que todas las poblaciones celulares del hígado participen en la producción y degradación de los componentes de la MEC, se cree que las células

estrelladas del hígado son el principal tipo celular fibrogénico, que después de una activación se produce una transdiferenciación fenotípica y estas células adquieren capacidades proliferativas, fibrogénicas y contráctiles (**figura 7**). Por tanto, la activación de las CEH juega un papel determinante en la patogenia de la fibrosis hepática, de manera que si esas células no existen o permanecen inactivas la fibrosis no se produce. En el proceso de activación de las CEH se han diferenciado 2 fases: la de *iniciación* y la de *perpetuación*. La primera supone que estas células han de modificar su aspecto morfológico y la expresión de sus genes para hacerlas capaces de ejercer sus funciones específicas y de responder a diferentes estímulos. La segunda fase implica el mantenimiento y amplificación de esos cambios morfológicos y funcionales. Se conocen sólo parcialmente los factores responsables de la activación de las CEH, pero sin duda las células de Kupffer, las células hepáticas lesionadas, las plaquetas, las endoteliales y las inflamatorias liberan factores que por vía paracrina activan a las CEH. Los hepatocitos lesionados por etanol, virus, hierro o cobre, además de ser fuente de lipoperóxidos que participan en esa activación, liberan multitud de factores (MIG, IP-10, MIP) que atraen hacia la lesión células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos) y activan las células de Kupffer.

Las células de Kupffer activadas por la agresión hepática y los agregados plaquetarios liberan multitud de citocinas, quemocinas y factores de crecimiento (PDGF, TGF β , TNF α , IGF-1, EGF, IFN γ , IL-1, IL-6, IL-8, MIP, RANTES, MCP-1, ICAM-1) que actúan en el mismo sentido. Además, los macrófagos expresan NADPH oxidasa (NOX) que, a través de la formación de ROS (reactive oxygen species), pueden contribuir a activar las CEH⁴⁵.

Las células endoteliales de los sinusoides suelen ser las primeras en sufrir la agresión inmunológica o por tóxicos. Estas células liberan fibronectina, la cual interacciona con las moléculas de integrina de las membranas celulares y pone en marcha una cascada de señales intracelulares que conduce a la proliferación, migración, supervivencia y activación celular. Además, estas células liberan también bFGF (basis fibroblast growth factor), HGF, citocinas (TNF α , IL-1, IL-6), quemocinas (IL-8, RANTES, MCP-1, MIP-1 β , IP-10, MIG, ITAC), factores de adhesión (ICAM-1, VCAM-1) y el activador del plasminógeno. Además, la destrucción de la MEC como consecuencia de la agresión tisular permite la liberación de las numerosas citocinas que están retenidas en ella y, con ello, que recuperen su capacidad funcional⁴⁵.

La fibrogénesis mantenida dará lugar no solo a un aumento de la producción de colágeno, sino a una disminución de su degradación como consecuencia de la activación de enzimas inhibitoras de las MMPs, las llamadas TIMPs. La acumulación progresiva de la fibra colágena en el hígado provoca desestructuración de la arquitectura y una

modificación del sistema microvascular hepático. Esta alteración produce que un sistema sinusoidal de capilares discontinuos se transforme en un sistema de capilares continuos, que es lo que se denomina la capilarización. Es decir, se produce un aumento de la producción de colágeno tipo IV, laminina y elastina en el espacio de Disse, donde se forma una membrana basal verdadera. Esto comportará un aumento de la presión portal, que contribuirá a medio plazo, a la aparición de la sintomatología característica del paciente cirrótico descompensado (ascitis, varices, etc..)^{43,44}.

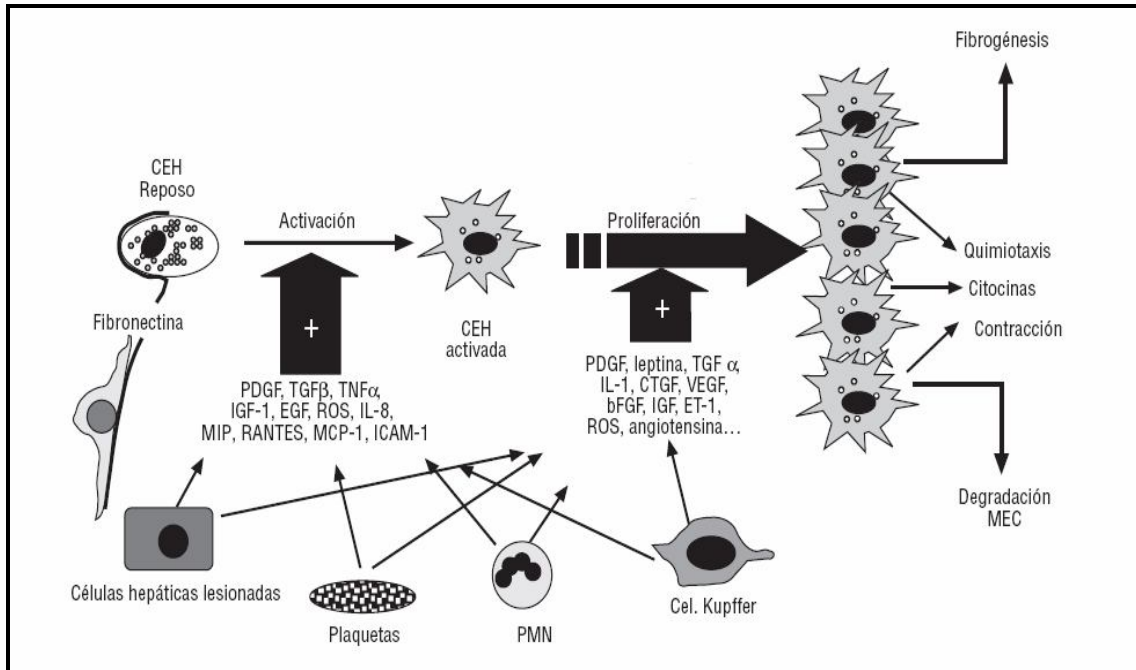


Figura 7. Activación y proliferación de las CEH⁴⁵ (reproducida con permiso).

Factores relacionados con la progresión de la fibrosis hepática.

Se ha demostrado que la HCC es, fundamentalmente, una enfermedad que produce una fibrosis progresiva y que el estadio de fibrosis estima mejor la evolución de la enfermedad que el grado de actividad, siendo predictivo de la evolución a cirrosis.

Sin embargo, en la actualidad existen todavía muchos aspectos controvertidos en lo que se refiere a la progresión de la hepatitis crónica a formas más avanzadas de enfermedad hepática. En primer lugar, no se conoce con exactitud si la progresión de la enfermedad se produce de forma lineal o inevitable en todos los pacientes, o bien depende de la existencia de otros factores dependientes del propio virus, del huésped o de tipo externo. Así, la velocidad de la progresión de la fibrosis hepática varía ampliamente entre los diferentes pacientes, a un ritmo aproximado de 0,10-0,15 unidades de fibrosis/año por década⁴⁶⁻⁴⁹. Por otra parte, existen datos que indican que el ritmo de progresión de la

lesión histológica hepática varía extraordinariamente de unos pacientes a otros. Poynard et al⁴⁶ observaron que el índice de progresión de la fibrosis no sigue una distribución normal sino asimétrica. Así, sugirieron la existencia de al menos tres poblaciones de individuos: una población de "fibrosadores rápidos", con un tiempo medio esperado de evolución a cirrosis de menos de 20 años, una población de "fibrosadores intermedios", con un tiempo medio de evolución a cirrosis de 30 años, y una población de "fibrosadores lentos", que no progresarán a cirrosis y que, en caso de hacerlo, necesitarán más de 50 años. Estas diferencias parecen estar relacionadas con diversos factores dependientes del propio virus, del huésped o de tipo externo como se muestra en la **tabla 6**.

FACTORES HUESPED	FACTORES VIRALES (PROTEINAS VIRALES)
Factores demográficos	
Sexo Edad infección Etnia Duración infección	Estrés oxidativo
Factores tóxicos	
Tabaco/Cannabis Sobrecarga hierro Alcohol	Apoptosis
Factores inmunosupresión	
Transplante organos Coinfección VIH	Esteatosis
Factores metabólicos	
Esteatosis Resistencia insulina Obesidad	
Factores específicos hígado	
Coinfección VHB Transaminasas	Estimulación citoquinas
Factores genéticos	
Polimorfismos	

Tabla 6. Factores que afectan a la progresión de la fibrosis⁴⁷. Reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons".

Edad.

Varios estudios demuestran que existe una correlación entre la edad a la que se contrae la infección y la fibrosis. A igualdad en la duración de la infección, los pacientes que se infectan después de los 40 años tienen más probabilidades de desarrollar fibrosis que los que adquieren la infección antes de esa edad, probablemente en relación con una vulnerabilidad superior a factores ambientales (sobre todo estrés oxidativo) o con una reducción del flujo sanguíneo o un deterioro de las actividades mitocondrial e inmune^{46,48,50}.

Sexo.

Independientemente de la edad, algunos autores han observado que los varones presentan una progresión de la fibrosis 10 veces más rápida que las mujeres, lo cual podría deberse a la acción de las hormonas femeninas. Esto se ha constatado en algún modelo experimental de lesión en el que los estrógenos modulan la fibrogénesis, bloquean la proliferación de las células estrelladas y pueden modificar la expresión de algunos factores solubles como el factor de transformación del crecimiento^{46,51}.

Etnia.

Existe una evidencia creciente de que el porcentaje de progresión a cirrosis es más bajo entre la población afroamericana que entre los pacientes infectados de raza blanca. Paradójicamente, se ha constatado que los afroamericanos presentan un porcentaje mayor de infección y de desarrollo de lesiones crónicas y de CHC, y una respuesta al tratamiento antiviral más baja^{52,53}.

Alcohol.

En pacientes con infección por el VHC el consumo de alcohol potencia la progresión de la HCC. No se conoce el nivel por encima del cual el alcohol acelera la progresión de la enfermedad, aunque se cree que oscila entre los 30 y los 80 gr/día. Poynard et al.⁴⁶ demostraron que los pacientes con HCC que bebían más de 50 gr/día tenían un incremento del 34% en el porcentaje de progresión de la fibrosis en comparación con los que bebían menos cantidad. Los mecanismos por los cuales el alcohol agrava la HCC probablemente son multifactoriales, y entrañan una combinación de alteración en la función inmunológica, estrés oxidativo, esteatosis hepática e incremento en los depósitos de hierro y de la intensidad de la apoptosis, así como el desarrollo de cuasiespecies e incluso un aumento en la replicación viral. Asimismo, se ha demostrado experimentalmente que la expresión de la proteína core y el consumo crónico de alcohol

umenta aditivamente la peroxidación lipídica y actúan sinérgicamente para incrementar la expresión hepática del factor transformador de crecimiento beta (TGF- β) y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), lo que podría estimular la activación de las células estrelladas hepáticas^{47,54,55}.

Metabolismo del hierro.

En la hepatitis crónica por el VHC se ha señalado un incremento de los parámetros séricos del hierro (sideremia y ferritina) con frecuencia variable pero significativa, pero la sobrecarga hepática de hierro es menos frecuente, y cuando existe suele ser ligera o moderada y suele predominar en las células de Kupffer. Se considera que la sobrecarga hepática de hierro se asocia con fibrosis hepática en la HCC, con peor respuesta al tratamiento basado en interferón e incluso de que la evolución sea más desfavorable. Sin embargo, la frecuencia y la gravedad de la sobrecarga férrica en la HCC, que oscila entre límites muy amplios, del 7 al 32%, es objeto de controversia. La acumulación de hierro en el hígado puede agravar el daño hepático al generar radicales libres, facilitar la liberación de citocinas proinflamatorias e interferir con el sistema inmune. Este hallazgo es menos frecuente en otras enfermedades hepáticas como la infección por VHB, hepatitis autoinmune o cirrosis biliar primaria exceptuando la hemocromatosis hereditaria, hepatopatía alcohólica y la esteatohepatitis no alcohólica⁵⁶. El hecho de que los niveles séricos y el depósito hepático de hierro estén por encima de la normalidad en la hepatitis crónica por VHC en ausencia de enfermedades hemolíticas, ingestión crónica de alcohol o transfusiones repetidas tiene importancia pronóstica y terapéutica^{57,58}. La observación de que algunos pacientes con HCC tienen aumentados los depósitos de hierro en el tejido hepático, y que esta condición estaba asociada a un mayor grado de lesión histológica y mayor estadio de fibrosis, así como a peor respuesta al tratamiento antiviral, ha promovido diferentes estudios que evalúan el papel de la sobrecarga férrica y de las mutaciones del gen HFE de la hemocromatosis en la HCC^{59,60}.

Coinfección con VIH.

La infección por el VIH tiene efectos importantes sobre la gravedad de la HCC. En comparación con los pacientes mono infectados por el VHC, los coinfectados presentan mayores niveles de ARN-VHC, desarrollo acelerado de fibrosis hepática, incremento en la prevalencia de cirrosis y evolución clínica más grave. Según un estudio de Benhamou et al. el intervalo medio de progresión a cirrosis estimado en el paciente coinfectado es de 26 años frente a 34 años en el paciente mono infectado⁶¹.

Parece que el VIH podría modular la respuesta inmune intrahepática, por descenso de células CD4 y aumento de las CD39, favoreciendo la fibrosis hepática.

Es arriesgado querer separar el efecto de la infección por VJH y la inmunosupresión que produce el virus. Sin embargo, los pacientes que tienen una buena situación inmunológica con el tratamiento antirretroviral tienen mayor progresión de fibrosis respecto a los pacientes mono infectados por VHC. Además, la respuesta inmune frente a VHC está alterada, incluso en etapas precoces de la infección. Según parece, la infección por VIH produce una disminución de los linfocitos CD4 intrahepáticos que secretan citoquinas antiinflamatorias y antifibróticas (FOXP3, Interleucina [IL] 10) que promueven la progresión de la fibrosis⁶².

Los factores asociados con un mayor porcentaje de progresión de la fibrosis incluyen la inmunodepresión con un recuento celular de $CD34 < 200$ células/mm³, el consumo crónico de alcohol (>50 gr/día) y la edad de la infección por el VHC (> 25 años)⁴⁷.

Trasplante de órganos.

La recurrencia de la enfermedad en el injerto es un hecho que está claramente demostrado en el caso de los virus de la hepatitis B y C, precediendo siempre a la formación de fibrosis la existencia de actividad necroinflamatoria. La reinfección del VHC es prácticamente universal y, por el momento, inevitable, con posterior desarrollo de hepatitis crónica en la gran mayoría de los pacientes^{63,64}. De éstos, cerca de las dos terceras partes acaban desarrollando una fibrosis importante en el transcurso de los primeros 10 años postrasplante. En un estudio reciente se estimó que la probabilidad acumulada de desarrollar una cirrosis del injerto por el VHC pasaba del 3,7% al año al 28% a los 5 años de seguimiento. Estos hallazgos reflejan la elevada agresividad de la hepatitis C en el trasplante hepático frente a lo descrito en pacientes inmunocompetentes. La demostración de esta hipótesis proviene de un estudio multicéntrico que comparó la progresión después y antes del trasplante en una cohorte de 284 pacientes. La tasa de progresión de la fibrosis fue significativamente mayor después que antes del trasplante, lo cual se traduce en un menor tiempo requerido para el desarrollo de cirrosis⁶³. A partir de la tasa de progresión de fibrosis, se pudo estimar que este tiempo tenía una mediana de 9-12 años en el trasplantado, duración significativamente menor a la descrita en el paciente inmunocompetente, en el cual la historia natural de la infección por el VHC se mide en décadas. Esta mayor agresividad en la historia natural de la hepatitis C no solamente ocurre en la fase precirrótica, sino igualmente tras el desarrollo de cirrosis del injerto, con una tasa de descompensación clínica muy alta tras períodos cortos de seguimiento⁶³.

Se han señalado como factores de progresión de la fibrosis hepática la edad del donante (>40 años), un nivel elevado de ARN-VHC previo al trasplante, el genotipo del VHC y el tratamiento inmunosupresor utilizado^{65,66}. La **tabla 7** muestra las variables que influyen en la progresión de la fibrosis del injerto⁶⁶.

VARIABLES		ASOCIACIÓN
Del virus	Fenotipo	1b
	Carga viral pre-LT	Positiva (0,5-1 Meq/ml)
	Carga viral al 4 mes	Positiva (>10 Meq/ml)
Del donante	Edad	Positiva (>45-50 años)
	Sexo	Positiva (peor mujeres)
Histológicas	Grado activ. Biopsia inicial	Positiva (HAI >3 al 4º mes y >8 al año)
Hallazgos específicos		Esteatosis, colestasis, degeneracion hepatocitaria
Precocidad recurrencia histológica		Peor en 6 primeros meses
Inmunosupresión	Bolos metilprednisolona	Positiva
	Preparados antilinfociticos	Positiva
	Tipo inducción	(?)
Del huesped	Raza	(?)
	HLA	(?)
De la intervención	Tiempo isquemia caliente	Positiva (>70 min)
	Tiempo isquemia fria	Sin asociación
Otras	Año trasplante	Positiva (>1995)
	Anti HCV core IgM Ab	Positiva (al mes postLT)
	Infección Citomegalovirus	Positiva
	Coinfección VHB	(?)
	Coinfección VHG	Sin asociación
	Progresión pretrasplante	Sin asociación
	Hepatocarcinoma	(?)

Tabla 7. Variables predictivas de progresión histológica o gravedad de la hepatitis C recurrente⁶⁶ (reproducida con permiso del autor).

Si bien el tratamiento antiviral es la principal herramienta de que disponemos para mejorar el pronóstico de estos enfermos, hay muchos pacientes en los que, o bien no se puede administrar este tratamiento, o bien no responden a él. Potenciar los factores

antifibrogénicos y/o eliminar y evitar los que se asocian con una progresión más agresiva de la hepatitis constituye una alternativa⁶⁵.

Factores metabólicos.

La presencia de esteatosis constituye un hallazgo histológico frecuente en la biopsia de pacientes con HCC, con una prevalencia que oscila entre el 31 y el 73% de los pacientes; y en algunos puede ser extensa y grave, lo que contribuye a la progresión de la fibrosis hepática. Su papel en la progresión de la enfermedad y su relación con la respuesta al tratamiento no han sido definitivamente establecidos⁶⁷.

La esteatosis hepática también se encuentra en pacientes con etilismo crónico, diabetes, obesidad o dislipemia; todos ellos son factores que pueden asociarse en enfermos con infección por el VHC. De esta forma, los mecanismos que desembocan en una acumulación de grasa en el interior del hepatocito de los pacientes con HCC son multifactoriales. En un subgrupo de pacientes, la esteatosis hepática se asocia con los factores de riesgo del hígado graso o esteatohepatitis no alcohólica (como la obesidad, la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico), mientras que en otros casos tales factores pueden estar ausentes y la esteatosis puede relacionarse directamente con el propio VHC (esteatosis viral). La esteatosis de causa metabólica se observa más a menudo en pacientes con genotipo 1 o 2 del VHC, mientras que la de tipo viral se relaciona con el genotipo 3 debido a un efecto directo de las proteínas core y NS5A del VHC, que interfieren con la captación y transporte intracelular y con el ensamblaje y secreción de las lipoproteínas^{32,47}.

En diferentes estudios se ha constatado que los pacientes con esteatosis presentan una mayor gravedad de la fibrosis, lo que se interpreta como que la esteatosis desempeña un papel determinante en la progresión de la enfermedad⁶⁸⁻⁷⁰.

Diabetes mellitus.

La interacción entre la resistencia a la insulina (RI) y la hepatitis C ha sido objeto de gran interés en los últimos años. La RI se ha observado con más frecuencia en la hepatitis C que en otras enfermedades del hígado incluida la esteatohepatitis no alcohólica. Se acepta que el virus C promueve el desarrollo de RI induciendo la degradación del sustrato del receptor de la insulina, básicamente como mecanismo de defensa, ya que por un lado, la RI junto a la esteatosis hepatocitaria facilitan la replicación y el ensamblaje viral, por otro lado favorece la progresión de la fibrosis, y por último, esta anomalía metabólica confiere resistencia al Peg-INF y la ribavirina, de forma que la posibilidad de curación disminuye a la mitad en pacientes con RI. Por tanto, la resistencia insulínica y la hiperinsulinemia se ha encontrado asociadas con la fibrosis hepática en la hepatitis C. De hecho, los niveles de glucosa elevados en suero se

han encontrado asociados con un incremento de la tasa de progresión a la fibrosis, mayor incluso que el sobrepeso. El índice medio de RI aumenta con el estadio de la fibrosis y podría ayudar a diferenciar estadios de fibrosis.

Aunque la mayoría de los estudios confirma las hipótesis comentadas, existen trabajos con resultados contradictorios, que pudieran estar relacionados con dos aspectos: a) el método para medir la RI, el índice *Homeostasis Model for Assessment* (HOMA= $\text{insulina en ayunas (mUI/ml)} \times \text{glucosa en ayunas (mmol/L)} / 22,5$), es un método indirecto y simplificado, pero con una amplia variabilidad intra e interensayo, y b) la fuerte interacción entre variables como la RI, la obesidad o la esteatosis hepatocitaria, que genera a priori resultados contradictorios pero que sólo reflejan diferentes formas de medir un mismo evento^{71,72}.

El desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 depende de factores medioambientales, genéticos y relacionados con la dieta. La diabetes mellitus tipo 2 se ha visto con más frecuencia en pacientes con enfermedad hepática crónica que en la población general⁷¹.

Los datos que apoyan una asociación entre diabetes mellitus y la hepatitis C incluyen:

a) estudios transversales que encuentran un incremento de la prevalencia de diabetes mellitus en pacientes con HCC, o mayor prevalencia de la hepatitis C en pacientes con diabetes mellitus; b) estudios casos-cohortes que analizan el desarrollo de diabetes durante el seguimiento de pacientes con hepatitis C frente a pacientes no infectados, incluyendo el seguimiento después del trasplante hepático⁷².

La cirrosis hepática se ha considerado responsable de la aparición de RI y diabetes tipo 2 en pacientes que padecían enfermedades hepáticas crónicas. Se especulaba que la hiperinsulinemia se debía más a un defecto de extracción hepática que a una hipersecreción pancreática. El péptido C y la insulina se secretan en cantidades equimolares, y más del 50% de la insulina se degrada en el hígado como primer paso, mientras que el péptido C es metabolizado en los riñones. Las medidas simultáneas del péptido C e insulina han permitido demostrar que la intolerancia a la glucosa en pacientes con hepatopatía se debe a la RI e hiperinsulinemia^{73,74}. Los pacientes con HCC presentan mayor RI que controles sanos y también frente a pacientes con hepatopatías víricas (no hepatitis C) y metabólicas, a pesar de existir una distribución similar por sexo, índice de masa corporal (IMC), edad, antecedentes familiares de diabetes y estadio de fibrosis⁷⁵. La diabetes mellitus tipo 2 es más frecuente en pacientes con hepatitis C que en otras hepatopatías crónicas, independientemente del estadio histológico (un 20-25% en hepatitis C frente a un 10% en hepatitis B)^{76,77}. Es controvertido si la hepatitis C promueve el acúmulo de grasa y la aparición de obesidad⁷⁸.

Además, en ciertos grupos de edad y sexo, la hepatitis C se asocia a obesidad, lo que favorecería la aparición de RI. Por otro lado, la RI se asocia a una mayor progresión de la fibrosis⁷⁹, probablemente por su implicación en el desarrollo de esteatosis hepática,

que provoca una mayor actividad necroinflamatoria y acelera la progresión de la fibrosis⁶⁸⁻⁷⁰. Entre los factores implicados en la progresión de la fibrosis en pacientes con hepatitis C y RI, están: a) la esteatosis; b) la hipoadiponectinemia; c) la hiperleptinemia, d) el incremento de los niveles de TNF y e) daño en la expresión de los receptores PPAR γ ^{71,72}.

En resumen, la hepatitis C promueve la RI y esta última induce resistencia a interferón, esteatosis y progresión a la fibrosis de forma genotipo dependiente. En el genotipo 1 la RI disminuye la tasa de respuesta sostenida, y aumenta el riesgo para desarrollar esteatosis y progresión a la fibrosis, en ambos, coinfectados VHC y VIH y en mono infectados por VHC. El tratamiento de la RI, disminuyendo la hiperinsulinemia, podría mejorar la tasa de respuesta sostenida en pacientes con HCC con genotipo 1 cuando son tratados con Peg-INF más ribavirina.

Metabolismo lipídico y obesidad.

El VHC se transporta en la sangre fundamentalmente vehiculizado por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y, en menor cuantía, tanto por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), como por las inmunoglobulinas IgG. La unión del virus a las células humanas se hace a través de los receptores de LDL. La saturación *in vitro* de esos receptores con lipoproteínas produce un bloqueo de la penetración celular del virus. La infección por virus C despierta la producción del TNF- α , correlacionándose los valores de dicha citocina, de forma directa, con los valores de triglicéridos plasmáticos y, de forma inversa, a los valores de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad del colesterol (HDL). La unión del VHC a las VLDL parece eludir parcialmente la defensa inmunológica celular. En algunas ocasiones se despierta una respuesta humoral y se producen anticuerpos, llamados factor reumático de Waldestrom (FRW), dirigidos contra el complejo formado por el virus y las lipoproteínas, asociándose el cuadro, en estos casos, a una cierta mejor evolución de la hepatitis, aunque a veces se desencadene la aparición de una vasculitis⁸⁰.

Varios estudios han demostrado la asociación existente entre el metabolismo lipídico y la infección por virus C. Sin embargo, poco se conoce sobre la posible relación genotípica entre el perfil lipídico y la carga viral en este tipo de pacientes. En un estudio reciente publicado en 2009, se analiza esta relación, demostrando una relación directamente proporcional entre el nivel de triglicéridos y la carga viral en pacientes con genotipo 1 y 2⁸¹.

Coinfección con el virus de la hepatitis B y A.

La coinfección por otro virus de la hepatitis normalmente condiciona una baja replicación en uno o en ambos por interferencia, lo cual hace excepcional encontrar valores altos de actividad en estos enfermos. Así, no es sorprendente que la coinfección por virus B, virus G o virus TT no haya demostrado una mayor progresión de la enfermedad.

Su prevalencia en la coinfección con VHB es incierta. Los pacientes con doble infección suelen ser mayores de 40 años, con antecedentes de transfusión de sangre, uso de drogas por vía intravenosa y consumo de alcohol, con una historia de niveles de GPT repetidamente elevados y una marcada propensión a desarrollar cirrosis. Aunque se ha documentado la infección oculta por el VHB en pacientes con infección crónica C (presencia de ADN-VHB por PCR en ausencia del AgHBs), no existe una evidencia clara de que dicha infección acelere la progresión de HCC. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que estos pacientes presentan lesiones hepáticas más severas y mayor número de complicaciones, incluyendo una mayor frecuencia de hepatocarcinoma, en comparación con los pacientes no coinfectados^{82,83}.

Los pacientes con hepatitis C que presentan una hepatitis por virus A (VHA) parecen tener un riesgo mayor de hepatitis fulminante y de muerte. Por ello, se ha recomendado la vacunación frente al VHA en pacientes con infección crónica por el VHC, sin embargo, las vacunas frente a estos virus en los pacientes con infección crónica por el VHC están infrutilizadas. Uno de los obstáculos más importantes que se interponen en la adecuada vacunación de estos pacientes es el elevado coste que esta medida preventiva supone, siendo por tanto fundamental diseñar las estrategias de vacunación que resulten más costo-eficaces⁴⁷.

Transaminasas.

La elevación de transaminasas es un parámetro indicativo de la actividad necrótica inflamatoria del hígado, pero no guarda una relación directa con el grado de la lesión y está influenciada por otros factores, como obesidad, RI y esteatosis asociada, que no se relacionan con la necrosis de las células hepáticas. El grado de actividad necroinflamatoria se asocia con una progresión de la fibrosis. Aproximadamente un 25-46 % de los pacientes con HCC tienen niveles de GPT persistentemente normales. Dado que dicho grado de actividad se asocia en muchas ocasiones con una elevación de los niveles de GPT, no sorprende que pacientes con niveles elevados de GPT presenten una mayor prevalencia de cirrosis que aquellos con niveles persistentemente normales, aunque algunos de estos pacientes pueden desarrollar fibrosis en puentes o cirrosis^{33,84,85}.

En relación con las cifras de transaminasas existen dos aspectos a considerar en la historia natural. El primero es si los enfermos con cifras constantemente muy altas de transaminasas tienen una progresión más rápida de la enfermedad. En este aspecto, aunque no existen estudios controlados, existe la impresión de que aquellos enfermos con cifras constantemente elevadas y de forma importante tienen una más rápida progresión de la enfermedad (nivel de evidencia III B). La segunda cuestión es si los enfermos con cifras constantemente normales de transaminasas tienen una evolución de la fibrosis estable o mínima. En la actualidad se sabe, según estudios de seguimiento, que, entre un 12 a 21% de estos enfermos con ARN-VHC positivo e inicialmente transaminasas normales, tienen elevaciones puntuales posteriormente. Además, los diversos estudios de seguimiento muestran resultados variados con respecto a la progresión. Así, mientras para algunos la progresión es nula, otros encuentran un aumento de la fibrosis en un 20% de los casos. Por todo lo anterior se ha tratado de establecer una posibilidad de progresión en razón del grado de fibrosis encontrado en la biopsia basal, y se piensa que el porcentaje de desarrollo de cirrosis es de un 15% a los 30 años, cuando en la biopsia inicial los enfermos no presentan fibrosis frente a 51% a los 20 años cuando la fibrosis inicial es estadio uno (nivel de evidencia III B). Así pues, se puede concluir que el nivel de elevación de las transaminasas es un indicativo indirecto de la progresión de la enfermedad, pero sin poder establecer una relación directa absoluta⁸⁶.

Factores genéticos.

Se ha estudiado la influencia genética en los pacientes con HCC para evaluar la capacidad de eliminar el VHC y la progresión de la enfermedad. Como resultado de estos estudios, se han encontrado algunos antígenos leucocitarios humanos (HLA) de clase I y II, que se asocian con una mayor progresión (B54, DRB0405 y DQB1 0401), y otros (DRB1 1302, DRB1 1101, y DQB1 0604) con actividad muy baja de hepatitis y transaminasas normales. Otros factores genéticos involucrados en la mayor progresión son los polimorfismos en los genes del factor de transformación del crecimiento $\beta 1$ y angiotensina II⁴⁷. La **tabla 8** muestra los polimorfismos genéticos que afectan a la progresión de la fibrosis.

GEN	POLIMORFISMO	ASOCIACIÓN
Antígeno Leucocitario Humano (HLA)	DRB1	Reducción inflamación
	DRB1*11	Aclaramiento espontáneo VHC
Transportador Asociado con Antígeno Procesador (TAP)	TAP2*0103	ALT normal en pacientes japoneses
Prev Nramp1	SCL11A1 genotipo 2/2 promotor	Fibrosis leve
Quimiocina Receptora tipo 5 (CCR5)	CCR5Δ32	Reducción inflamación, fibrosis leve, aclaramiento espontáneo VHC
RANTES	-403 en promotor	Inflamación leve
Proteína Quimioatrayente Monocitos tipo 1 (MCP-1)	G/A O G/G genotipo	Incremento inflamación, fibrosis avanzada
Proteína Quimioatrayente Monocitos tipo 2 (MCP-2)	Q46K	Fibrosis avanzada
Interleucina 10 (IL-10)	ATA o ACC homocigosidad	Fibrosis rápida
Factor Necrosis Tumoral β	A/A alelo (region promotora)	Fibrosis avanzada
Angiotensinógeno (AT)	A/A alelo en AT-6 region promotora	Elevado AT genotipo, fibrosis avanzada
Factor Transformador de Crecimiento (TGF-β1)	A/A alelo en codon 25	Elevado TGF-β1 genotipo, fibrosis avanzada
Epoxido Hidrolasa Microsomal	H/H alelo homocigosidad	Lento metabolizador fenotipo, fibrosis avanzada
Factor V	Factor V Leiden	Rápida progresión fibrosis

Tabla 8. Polimorfismos genéticos que afectan a la progresión de la fibrosis⁴⁷. Reproducido bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

Factores virales: carga viral y genotipo.

Se ha demostrado experimentalmente que las proteínas del VHC tienen un efecto inhibitorio sobre el sistema inmunológico y, además, regulan diferencialmente funciones biológicas claves implicadas en la fibrogénesis hepática.

Ni el genotipo ni la carga viral ni las cuasiespecies se han asociado hasta el momento con el grado de fibrosis^{85,86}.

La influencia del genotipo del VHC en la probabilidad de progresión de la hepatitis no está en la actualidad totalmente aclarada. Mientras que en unos estudios el genotipo 1 parece asociarse a una mayor progresión histológica que el genotipo 2, otras investigaciones no aprecian ninguna influencia del genotipo viral en la evolución de la enfermedad. Otros autores atribuyen la influencia del genotipo a un efecto cohorte, ya que los pacientes de mayor edad y hepatopatía más avanzada presentan una mayor prevalencia de genotipo 1 que la observada en pacientes más jóvenes, en los que

aumenta la proporción de otros genotipos como el 2 y el 3. Únicamente el genotipo 3 podría tener alguna relación debido a la asociación entre la esteatosis y este genotipo concreto⁴⁸.

VALORACIÓN DEL GRADO DE FIBROSIS HEPÁTICA.

Detectar la presencia de fibrosis hepática, cuantificar su magnitud y controlar su progresión resultan fundamentales para la toma adecuada de decisiones relacionadas con el manejo clínico de la enfermedad hepática. Cuestiones referidas al tratamiento, como el mejor momento para iniciarlo, qué pacientes van a beneficiarse o valorar la respuesta a dicha terapia, son cruciales para el pronóstico de estos pacientes. Es conveniente realizar un estrecho seguimiento de la evolución de la fibrosis y en pacientes de alto riesgo será necesario el cribaje de las posibles complicaciones asociadas a cirrosis como el hepatocarcinoma o el desarrollo de varices esofágicas. En este contexto, en los últimos tiempos el interés de los médicos se ha centrado en desarrollar herramientas que permitan cuantificar la magnitud de la fibrosis hepática y predecir su evolución del modo más exacto y menos lesivo posible⁸⁶. Los métodos de valoración de la fibrosis se clasifican según sean invasivos o no como muestra la **tabla 9**.

MÉTODOS INVASIVOS	MÉTODOS NO INVASIVOS
BIOPSIA HEPÁTICA	SEROLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS
	TÉCNICAS IMAGEN
	ELASTOGRAFIA TRANSICIÓN

Tabla 9. Métodos de valoración de la fibrosis hepática (elaborada por el autor).

Biopsia hepática.

Actualmente la biopsia hepática constituye la técnica diagnóstica de elección para determinar la fibrosis hepática y es considerada el *gold standard* de diagnóstico de la enfermedad. La biopsia hepática se realiza normalmente por vía percutánea, bien a ciegas o bien bajo control ecográfico, que facilita la elección del sitio y la dirección más idóneos para la punción. El tamaño de la muestra de biopsia oscila entre 1 y 4 cm de longitud y entre 1,2 y 2 mm de diámetro, lo que tan sólo representa el 1/50.000 de la masa total del hígado. En pacientes con alteraciones importantes de la coagulación se realiza biopsia transyugular guiada por fluoroscopia^{87,88}.

El análisis histopatológico de la biopsia informa no sólo sobre la fibrosis hepática, sino también sobre la actividad necroinflamatoria, el grado de esteatosis hepática y sobre la etiología del trastorno hepático. Existen varios sistemas para cuantificar el estadio de fibrosis hepática mediante biopsia. El más utilizado es el METAVIR (*METAVIR scoring system*) que fue diseñado específicamente para pacientes con HCC.

METAVIR mide la fibrosis en una escala de 0-4 (F0,F1,F2,F3 y F4), donde F0 corresponde a ausencia de fibrosis; F1, fibrosis portal sin septos; F2, fibrosis portal con algunos septos; F3, numerosos septos sin cirrosis; y F4, cirrosis⁸⁹. Se considera fibrosis significativa cuando el estadio de fibrosis es igual o superior a F2 y fibrosis avanzada, cuando se informa un estadio de fibrosis igual o superior a F3. La detección de pacientes en estadio F2 o superior conlleva importantes implicaciones clínicas pues, en la mayoría de los casos, se considera el umbral para iniciar el tratamiento. Además del METAVIR que se representa en la **tabla 10**, existen otros métodos como la escala de clasificación de Knodell o índice de actividad histológica (HAI)⁹⁰(**tabla 11**), la de Ishak⁹¹ o la de Brunt, específica para fibrosis debida a esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)⁹².

METAVIR. Algoritmo para la evaluación de la actividad histológica			
Necrosis en sacabocado	+	Necrosis lobulillar	= Índice de actividad histológica
0 (ninguna)		0 (ninguna o leve)	0 (ninguna o leve)
0		1 (moderado)	1 (leve)
0		2 (intenso)	2 (moderado)
1 (leve)		0,1	1
1		2	2
2 (moderado)		0,1	2
2		2	3 (intenso)
3 (intenso)		0, 1, 2	3
Fibrosis			
Grado			
0		Sin fibrosis	
1		Ensanchamiento portal con aspecto estelar sin formación de septos	
2		Ensanchamiento portal con aspecto estelar con formación ocasionalesde septos	
3		Numerosos septos sin cirrosis	
4		Cirrosis	

Tabla 10. Sistema METAVIR para la evaluación de la fibrosis hepática⁸⁹. Reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons".

A pesar de que la biopsia es considerada el patrón oro para valorar el estadio de fibrosis hepática, su exactitud y reproducibilidad han sido cuestionadas por varios motivos. Por un lado, los posibles errores de muestreo porque el tamaño de las muestras de biopsia es pequeño y porque la distribución de la fibrosis en el parénquima hepático suele ser heterogénea⁸⁷. Regev et al.⁹³, en una serie de 124 pacientes a los que les tomaron una biopsia de cada lóbulo hepático (que medían al menos 1,5 cm o tenían 5 o más espacios portales) con control laparoscópico, encontraron diferencias en el grado (intensidad de los fenómenos necroinflamatorios) o en el estadio (intensidad de la fibrosis) entre ambos lóbulos hepáticos en el 24 y el 33% de los casos, aunque de dos grados o dos estadios solo en el 1,6 y 2,4 % respectivamente. Otros estudios, realizados en series menores, han obtenido resultados contradictorios, siendo uno de los factores determinantes, además del muestreo, el tamaño de la biopsia. En este sentido, en la revisión efectuada por Guido et al.⁹⁴ se llegó a la conclusión de que el tamaño tiene correlación con el número de espacios portales contenidos en el espécimen y que menos de 2 cm supone menor fiabilidad del diagnóstico, al igual que la presencia de un número de espacios portales inferiores a 11.

Índice de actividad histológica (HAI): Puntuación numérica en la biopsia							
Necrosis periportal y/o en puentes	Grado	Degeneración intralobulillar(δ) y necrosis focal	Grado	Inflamación portal	Grado	Fibrosis	Grado
A. Ninguna	0	A. Ninguno	0	A. Sin inflamación portal	0	A. Sin fibrosis	0
B. Leve	1	B. Leve (cuerpos acidófilos, degeneración balonoide y/o focos necrosis hepatocelular en menos 1/3 lobulillos o nódulos)	1	B. Leve (ocasionales células inflamatorias en menos de 1/3 de espacios porta)	1	B. Expansión fibrosa portal	1
C. Moderada necrosis en sacabocado (involucra menos del 50% de la circunferencia de la mayoría de los espacios porta)	3	C. Moderado (involucra 1/3 a 2/3 de lobulillos o nódulos)	3	C. Moderado (incremento en cantidad de células inflamatorias en 1/3 a 2/3 de espacios porta)	3	C. Fibrosis en puentes (porto-portales, porto-centrales)	3
D. Necrosis marcada en sacabocado (involucra más del 50% de la circunferencia de la mayoría de los espacios porta)	4	D. Intensa (involucra más de 2/3 de lobulillos o nódulos)	4	D. Intenso (denso infiltrado inflamatorio en mas de 2/3 de espacios porta)	4	D. Cirrosis ⚡	4
E. Moderada necrosis en sacabocado más necrosis en puentes Φ				5			
F. Marcada necrosis en sacabocado más necrosis en puentes Φ				6			
G. Necrosis multilobulillarφ				10			

Φ Los puentes están definidos como más de dos puentes en la biopsia hepática, sin distinción si son porto-portales o porto-centrales

δDegeneración-cuerpos acidófilos, degeneración balonoide, necrosis focal de hepatocitos

φDos o más lobulillos contiguos con necrosis panlobulillar

⚡Pérdida de la arquitectura normal lobulillar con formación de septos que forman y separan nódulos.

Tabla 11. Índice de actividad histológica (HAI) o escala Knodell⁹⁰. La puntuación HAI es una puntuación combinada de necrosis, inflamación y fibrosis. Reproducido bajo licencia de "Elsevier".

Por otro lado, se han comprobado diferencias inter e intra-observador en la propia interpretación de las biopsias, que pueden conducir a una infra o sobrestimación del estadio de fibrosis. Se dice que la tasa de errores de la biopsia puede llegar al 20% incluso siendo interpretada por patólogos expertos^{87,93}. Se han descrito algunas

limitaciones asociadas a la realización de este procedimiento como su carácter invasivo, por este motivo, la biopsia no puede proponerse como técnica para realizar el seguimiento de estos pacientes. Además, a esto se suma el hecho de proporcionar una visión estática de la enfermedad y el no poder predecir cuál va a ser su evolución a medio o largo plazo⁹⁵.

El estudio anatomopatológico del hígado es representativo del momento en que se ha obtenido el tejido y únicamente tiene valor pronóstico positivo si se observan lesiones avanzadas (en caso de cirrosis, el pronóstico es el general de esta entidad, mientras que si se observa fibrosis avanzada es probable el desarrollo de cirrosis). Cuando se encuentran lesiones necroinflamatorias y/o fibróticas escasas o moderadas, no puede interpretarse que el paciente esté exento de riesgos a lo largo de la evolución de la infección crónica por el VHC. Al respecto, existen diferencias entre distintos autores en lo que se refiere al ritmo en que aumenta la fibrosis, que, en cualquier caso, no parece ser uniforme, aunque existen datos suficientes para asegurar que es mayor cuanto más tiempo de evolución lleva la infección⁹⁶. Son bien conocidos los estudios que, además de esta variabilidad del índice de progresión en el tiempo, demuestran que existen factores individuales (fibrosadores lentos) o de otro tipo (consumo de alcohol, edad y sexo) que influyen en el incremento de la fibrosis. Los resultados obtenidos con pacientes cuya primera biopsia presentaba lesiones escasas o moderadas, revelan que, en el plazo de 3,2 años, las lesiones globales aumentan en el 40 % de los casos, mientras que si existía fibrosis, ésta progresa en el 27 % de los casos⁹⁷. Por otra parte, Boccatto et al.⁹⁸, en una cohorte de 106 pacientes con escasas lesiones en la biopsia inicial, observaron que en el 60 % de ellos se producía un aumento de la fibrosis en una segunda biopsia obtenida tras un periodo medio de 7,8 años, incluidos los que inicialmente tenían fibrosis de grado 0 (que se incrementó en el 49 % de los casos) o de grado 1 (que aumentó en el 65 % de los casos). Además, el 36 % de los pacientes que presentaba fibrosis de grado 1 en el primer estudio anatomopatológico tuvo fibrosis de grado 3 o cirrosis establecida en la segunda biopsia (**tabla 12**).

BIOPSIA INICIAL	BIOPSIA FINAL
F0=27/106	F0=14 (51,9%)
	F1=5 (18,5%)
	F2=8 (29,6%)
F1=79/106	F1=28 (35,4%)
	F2=22 (27,8%)
	F3=16 (20,2%)
	F4=13 (16,6%)

Tabla 12. Porcentajes de progresión de la fibrosis. Adaptado de Boccato et al⁹⁸ y reproducido bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

Otras limitaciones no menos importantes son su elevado coste y una baja aceptación por parte de los pacientes que en ocasiones conlleva demoras terapéuticas. Existen algunas contraindicaciones que imposibilitan su realización como alteraciones de la coagulación sanguínea, problemas hepáticos asociados o la falta de colaboración por parte del paciente⁹³.

Además, la biopsia no está exenta de riesgos. Se han descrito complicaciones menores asociadas a la biopsia percutánea como dolor, hemorragia leve que no requiere transfusión, o hipotensión transitoria. Pero también pueden producirse complicaciones mayores como hemorragia que requiere transfusión o tratamiento quirúrgico, perforación de órganos adyacentes, neumo-hemotórax, peritonitis biliar, sepsis y reacción alérgica a anestésicos, y en un porcentaje muy pequeño (1:10.000 a 1:20.000), puede producirse, incluso, la muerte⁹⁵.

Dadas las limitaciones de la biopsia hepática, el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos no invasivos, fáciles de realizar, reproducibles y capaces de diferenciar entre los distintos estadios de fibrosis hepática, se ha invocado como una necesidad indiscutible. Los avances en técnicas de imagen y en marcadores serológicos han generado expectativas sobre nuevos procedimientos diagnósticos que puedan constituir una alternativa a la biopsia hepática. Los pacientes comienzan, además, a tener información sobre estos nuevos procedimientos, lo que también contribuye al mayor

interés por los métodos diagnósticos no invasivos de fibrosis y a la menor aceptación de la biopsia hepática⁹⁹.

Técnicas de imagen.

La ecografía, la TC o la RNM son algunos de los métodos de imagen empleados como técnicas no invasivas en el estudio de fibrosis hepática. En la mayoría de los casos, han demostrado ser capaces de detectar cambios en el parénquima hepático cuando existe una fibrosis significativa, pero no resultan útiles para detectar estadios inferiores ni para realizar la estadificación de fibrosis. En general, son procedimientos costosos, con ciertos riesgos porque en algunos pacientes es necesario administrar contraste y en otros se expone al paciente a radiaciones⁹⁹.

El uso de ultrasonidos para el diagnóstico de la fibrosis hepática resulta atractivo porque a su falta de invasividad se suma su potencial para proporcionar información útil sobre el parénquima hepático, además de detectar cambios extrahepáticos secundarios a hipertensión portal. No obstante, la mayoría de estos cambios corresponde a una fase avanzada de cirrosis, situación en la que el diagnóstico clínico puede ser realizado con facilidad. Los ultrasonidos resultan de menor utilidad cuando se pretende discriminar entre hepatitis crónica y cirrosis compensada. La eco-Doppler parece más interesante para detectar cambios hemodinámicos, habituales en las fases pre-cirróticas de la enfermedad. La velocidad de flujo en los vasos hepáticos se ha podido correlacionar con el grado de fibrosis. En este sentido, programas de análisis de imagen sofisticados que evalúan los cambios en la heterogeneidad del parénquima hepático durante las fases de llenado vascular han generado gran interés. Sin embargo, los estudios realizados hasta la fecha muestran resultados contradictorios⁹⁹.

Inicialmente se confió en la capacidad diagnóstica de la TC helicoidal para estudiar fibrosis hepática, pero tanto la fibrosis como la cirrosis pueden ocasionar cambios en la atenuación hepática debido a los cambios hemodinámicos y no sólo a lesiones parenquimatosas, de ahí que tampoco resulte de gran utilidad. También se ha utilizado la RM, con y sin contraste, para estudiar esta patología. Se ha sugerido que incrementos en T2 pudieran estar relacionados directamente con la presencia de fibrosis, pero no es suficientemente sensible en los estadios tempranos de la fibrosis hepática¹⁰⁰⁻¹⁰².

Elastografía de Transición.

La elastometría o elastografía de transición uni-dimensional (ET) como nueva técnica diagnóstica de fibrosis hepática es la que más ha revolucionado el campo del diagnóstico no invasivo de fibrosis. Comercializada con el nombre de FibroScan® por la empresa Echosens (París, Francia), aparece por primera vez en una publicación científica en el año 2003⁸⁷. El uso de la ET en pacientes con enfermedad hepática se

basa en la relación existente entre la rigidez del hígado y el grado de fibrosis hepática. El FibroScan® consta de un transductor de ultrasonidos (de 5 MHz de frecuencia) acoplado sobre el eje de un vibrador. La sonda del transductor de ultrasonidos se coloca sobre la piel, en un espacio intercostal a la altura del lóbulo derecho hepático.

Con la ayuda de una imagen ecográfica en modo tiempo-movimiento se selecciona el área a estudiar, que debe tener un espesor determinado y estar libre de estructuras vasculares importantes. Una vez localizada el área más adecuada, se inicia la exploración presionando el botón de la sonda para generar una vibración de baja frecuencia (50 Hz) y moderada amplitud. Esta vibración induce una onda elástica que se propagará a través de los tejidos y cuya propagación es analizada mediante la adquisición de señales de ultrasonido con las que se genera el mapa de rastreo de dicha onda elástica, de acuerdo a los parámetros de profundidad y tiempo. De esta manera, se determina la velocidad de propagación de la onda elástica que está relacionada con la elasticidad tisular hepática: a menor elasticidad del tejido, mayor velocidad de propagación de la onda¹⁰³.

El FibroScan® mide la elasticidad de un cilindro de parénquima hepático de aproximadamente 1 cm de diámetro y 2-4 cm de longitud, lo que representa un volumen 100 veces mayor que el explorado con la biopsia y por esto, se considera que es más representativo de la totalidad del parénquima hepático. La profundidad de las mediciones oscila entre 25 y 45 mm, distancia que evita la interferencia en la medición del tejido celular subcutáneo y la cápsula hepática, en la mayoría de los adultos.

Para cada paciente, generalmente se realizan diez mediciones de la elasticidad y el resultado final que ofrece el FibroScan® es la mediana de todas las mediciones realizadas. Los resultados se expresan en kilopascales (kPa), y el rango de valores de elasticidad va de 2,5 a 75 kPa (**figura 8**). Cuando la medición no es válida, el FibroScan® no da ningún resultado. Se considera que la exploración es correcta si la proporción de mediciones válidas respecto al total de mediciones realizadas es de al menos el 60% y el rango intercuartílico no excede el 30% del valor de la mediana, para evitar excesiva variabilidad entre los resultados^{103,104}. En los diferentes estudios publicados se han empleado distintos puntos de corte considerados óptimos para definir cada estadio de fibrosis. En sujetos sin patología hepática, el valor mediano de FibroScan® es de $5,5 \pm 1,6$, significativamente superior en hombres y en casos de $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ ⁹⁶.



Figura 8. Medición de FibroScan® expresado en kPa. Imagen tomada en la Unidad de Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario de Jaén.

Entre las técnicas de elastografía, existen cuatro modalidades relevantes: la elastografía estática, la dinámica (que incluye la elastografía por RM y la sonoelastografía), la de transición y la elastografía remota. De ellas, la ET parece tener ciertas ventajas para el estudio del hígado pues es menos sensible a condiciones externas que las otras técnicas de elastografía y, además, el tiempo de realización de la prueba es corto, lo que permite que las mediciones puedan ser realizadas en órganos en movimiento⁸⁷. Esta tecnología tiene otras ventajas como su carácter no invasivo, no ser dolorosa, la facilidad para ser realizada, un tiempo de exploración corto (puede tardar menos de 5 minutos), su bajo coste y la inmediatez en la obtención de los resultados, que son operadorindependientes¹⁰⁵.

En relación con la reproducibilidad de la ET, el FibroScan® parece ser una tecnología reproducible sin variabilidad significativa inter e intra-observador. Un estudio reciente revela un excelente grado de concordancia en los resultados inter e intra-observador con un coeficiente de correlación intraclassa de 0,98 para ambas mediciones. No obstante, la reproducibilidad de la prueba es menor en los casos de fibrosis ligera (F0-1). Factores como la esteatosis o un elevado IMC reducen, igualmente, la reproducibilidad de la prueba¹⁰⁶.

Diversos estudios han valorado la exactitud diagnóstica del FibroScan® en comparación a la biopsia hepática. Los estudios se han realizado sobre todo en pacientes con HCC, pero también en pacientes con hepatitis crónica B (HCB), VIH y otras enfermedades crónicas incluyendo el consumo excesivo de alcohol o enfermedades metabólicas^{87,107}.

En la mayoría de los trabajos se describe una asociación estadísticamente significativa entre la medida de la elasticidad hepática obtenida con FibroScan® y los distintos estadios de fibrosis obtenidos mediante el análisis histológico. Según los autores, la capacidad diagnóstica del FibroScan® sería mayor en la identificación de la fibrosis grave o la cirrosis, y resultaría menos exacta en el diagnóstico de los estadios iniciales e intermedios. Este hecho es de gran interés clínico ya que el estadio F2 se considera el umbral para iniciar el tratamiento.

Por ser no invasiva, rápida y poco costosa, otras indicaciones clínicas sugeridas para el FibroScan® serían el seguimiento de la fibrosis hepática, dado que se trata de un proceso en continua evolución, y la monitorización de pacientes en tratamiento¹⁰³.

La literatura científica recoge algunos factores que pueden afectar los resultados de la ET en el diagnóstico de fibrosis hepática, como la actividad necroinflamatoria y la esteatosis hepática. El incremento de rigidez hepática no siempre es consecuencia de fibrosis, sino que una marcada actividad necroinflamatoria puede aumentar de forma significativa los niveles de elasticidad medidos con FibroScan®. Se ha observado que la actividad necroinflamatoria se correlaciona positivamente con la ET, por lo que un alto grado de inflamación hepática podría reducir la concordancia entre ET y biopsia. Por el contrario, se desconoce en qué medida la esteatosis hepática repercute en los valores de rigidez hepática. De hecho, según mantienen algunos autores, la esteatosis no influiría en los resultados de la ET^{87,103}.

Por otra parte, algunos aspectos relacionados con la biopsia hepática influyen también en la mayor o menor correlación entre las mediciones de la elasticidad hepática obtenidas con FibroScan® y los estadios de fibrosis definidos mediante el análisis histológico. Ciertos resultados discordantes pudieran ser debidos a fallos en la realización de dicha biopsia hepática, tales como la fragmentación de las muestras de biopsia¹⁰⁸.

En relación con la seguridad de la ET, existe acuerdo en que es una prueba segura, sin efectos adversos lo que ha contribuido a la buena aceptación por parte del paciente. Sin embargo, la literatura científica recoge algunas limitaciones del uso del FibroScan® y una tasa de fallos de 2,4 a 9,4%. Entre estas limitaciones se encuentran la ascitis, la obesidad y los espacios intercostales estrechos^{87,103,107}.

La ET presenta como ventaja frente a los marcadores bioquímicos o serológicos el medir un parámetro físico directamente sobre el hígado sin que otros factores extrahepáticos puedan interferir. Algunos autores han comparado la efectividad diagnóstica de la ET con la de los marcadores serológicos para estudio de fibrosis

hepática, obteniendo resultados no siempre coincidentes. En otros casos, se ha estudiado el uso combinado de la ET con dichos marcadores serológicos. En estos últimos, parece que mejora la capacidad diagnóstica del FibroScan®^{108,109}.

Métodos serológicos y bioquímicos.

Marcadores de fibrogénesis.

Estos métodos se basan en que la fibrosis hepática es una reacción local del hígado frente a una agresión crónica, por lo que los productos ligados a la fibrogénesis pueden ser detectados en el suero de los pacientes.

Hay diferentes marcadores serológicos de fibrogénesis que pueden clasificarse en glucoproteínas como la tenascina, la laminina y el ácido hialurónico, los propéptidos que forman la matriz colágena extracelular, la colágena VI o las metaloproteinasas, y finalmente, un grupo misceláneo de proteínas implicadas en los fenómenos de fibrogénesis, como el inhibidor tisular de las metaloproteinasas (TIMP-1) y el YKL-40. El ácido hialurónico resulta, en general, un buen marcador de cirrosis hepática y, por el contrario, una baja concentración de dicho ácido tiene un elevado valor predictivo para excluirla. Las concentraciones séricas de colagenasas y sus inhibidores como el TIMP-1 han sido también utilizados para investigar la gravedad de la fibrosis. Finalmente, en varios estudios se ha confirmado que las citocinas profibrogénicas, como las concentraciones de TGF- β 1, son también útiles para la identificación de enfermos con fibrosis hepática avanzada¹¹⁰. Otros autores han confirmado la eficacia de diferentes combinaciones de estos marcadores en la predicción de la fibrosis. Uno de ellos que combina la edad, el ácido hialurónico, la PIINP y la TIMP-1, alcanzó un elevado valor pronóstico, tanto en la predicción de fibrosis significativa como en la exclusión de ésta. En otro estudio, el llamado Fibrospect II, que combina el ácido hialurónico, la alfa-2-macroglobulina y la TIMP-1, consiguió también resultados similares¹¹¹.

Las limitaciones de los métodos descritos en este apartado estriban, como en otros casos, en su baja sensibilidad en las fases iniciales de la fibrosis, en que no son específicos de la fibrosis que se produce en la enfermedad hepática y en la dificultad ligada al hecho de que son parámetros más o menos complejos que no se utilizan en la práctica clínica sistemática^{110,111}.

Marcadores serológicos con pruebas sistemáticas.

Las variables de uso común en la práctica clínica relacionadas con mayor frecuencia con la fibrosis son la edad, el recuento de plaquetas, la aspartato aminotransferasa o transaminasa glutámico oxalacética (AST o GOT), la GPT, el cociente GOT/GPT, la gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), el colesterol, la actividad de la protrombina y la

haptoglobina. En el desarrollo de los diferentes índices que combinan algunas de estas variables con la finalidad de predecir el grado de fibrosis se ha seguido, en general, una metodología similar. En primer lugar, se identifican las variables con valor predictivo independiente de fibrosis en un análisis multivariable en una cohorte de pacientes. Con posterioridad se construyen los índices con la utilización de los coeficientes de regresión de cada variable predictora obtenidos en dichos análisis. Tras ello se evalúa la exactitud diagnóstica de los índices mediante construcción de curvas ROC (*receiver operator characteristic*) y se calculan los mejores valores de corte para identificar a los pacientes con ausencia o presencia de fibrosis significativa o cirrosis.

Finalmente, es preciso efectuar la validación del índice de los valores de corte en una población diferente de pacientes. En la **tabla 13** se exponen los principales índices descritos con sus correspondientes valores de predicción de la diferenciación entre fibrosis significativa y no significativa¹¹⁰.

INDICE	PARÁMETROS	REFERENCIA	AREA BAJO CURVA (F0-F1 FRENTE F2-F4)	
			COHORTE ORIGINAL	COHORTE VALIDACIÓN
Forns	Plaquetas, GGT, edad, colesterol	Forns X et al ¹¹²	0,81	0,70-0,77
APRI	GOT, plaquetas	Wai CT et al ¹¹³	0,83	0,70-0,76
HALT-C	Plaquetas, protrombina (INR), GOT, GPT	Lok AS et al ¹¹⁴	0,78	0,81
FIB 4 (VIH)	Edad, plaquetas, GOT, GPT	Sterling RK et al ¹¹⁵	0,77	0,79
FIB 4	Edad, plaquetas, GOT, GPT	Vallet-Pichard A et al ¹¹⁶	0,78	0,77
FibroIndex	Plaquetas, GOT, gammaglobulina	Koda M et al ¹¹⁷	0,83	0,82
Fibrotest	Alfa-2-microglobulina, haptoglobina, GGT, edad, Bilirrubina, apoA1, sexo	Imbert-Bismut F et al ¹¹⁸	0,84	0,87
Fibrometer	Plaquetas, protrombina, edad, urea, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico	Calés P et al ¹¹⁹	0,88	0,89
Hepascore	Edad, sexo, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico, bilirrubina, GGT	Adams LA et al ¹²⁰	0,85-0,86	0,82-0,90

Tabla 13. Índices serológicos para evaluación de la fibrosis en la hepatitis crónica¹¹⁰ (reproducida con permiso).

El índice de Forns fue uno de los primeros índices predictivo de fibrosis descrito que utiliza parámetros serológicos sistemáticos y uno de los más ampliamente utilizados en la práctica clínica. Dicho índice, que combina edad, GGT, colesterol y plaquetas, alcanza un alto valor en la exclusión de fibrosis significativa (F2-F4), con un valor predictivo negativo (VPN) del 96% (tabla 14). Sin embargo, el modelo no resulta tan eficaz en la predicción positiva de fibrosis significativa (valor predictivo positivo [VPP] del 66%)¹¹².

Fórmula FORNS: 7.811-A +B +C- D

A= 3.131* In(plaquetas), B= 0.781* In(GGT), C= 3.467 * In (edad) y D=0.014*colesterol.

Forns < 4,2 discrimina grado F0-F1 y Forns >6,9 discrimina grado F2-F4.

PUNTO DE CORTE	PRECISIÓN					POBLACION IMPLICADA	INTERPRETACIÓN
	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN	LR		
<4,2	0,94	0,51	0,4	0,96	1,9	39%	Ausencia fibrosis (96% certeza)
>6,9	0,3	0,95	0,66	0,8	6	12%	Presencia fibrosis (66% certeza)

Tabla 14. Rendimiento diagnóstico del sistema puntuación en grupo validación. (n=125); Prevalencia de fibrosis significativa, 26%¹¹². Reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons" y con permiso autor.

El índice, conocido con el acrónimo APRI (*AST to platelet ratio index*), resulta todavía más simple, ya que se construye únicamente con el valor de la GOT y el recuento de plaquetas¹¹³. En el test de validación se obtuvo una AUC de 0,88 en la predicción de fibrosis significativa y del 0,94 en la predicción de cirrosis. Con dicho índice, utilizando los valores de corte apropiados, los autores confirmaron el diagnóstico de cirrosis en el 81% de los pacientes. A partir de la cohorte del estudio HALT-C, en el que se incluyó a 1.141 pacientes con HCC sin respuesta previa a un tratamiento antiviral, se diseñó un sencillo índice de predicción de cirrosis mediante los valores de la actividad de protrombina (INR), GOT, GPT y el recuento de plaquetas. Con él se obtuvieron valores de AUROC de 0,78 y 0,81 en los modelos basal y de validación. El VPN, o sea, la

posibilidad de descartar la presencia de cirrosis en los pacientes con un índice inferior a 0,2 fue del 86%, mientras que el VPP (posibilidad de cirrosis) en los sujetos con un índice superior a 0,5 alcanzó el 75%¹¹⁴.

Fórmula APRI: $\{(AST/\text{limite superior de normalidad de AST})/\text{plaquetas}\} * 100$

**APRI $\leq 0,5$ discrimina grado F0-F1 y APRI $> 1,5$ discrimina grado F2-F4.
APRI ≤ 1 discrimina F0-F3 y APRI > 2 discrimina grado F4.**

Por otra parte, y también a partir de una cohorte de pacientes de un gran estudio multicéntrico internacional como es el AIDS Pegasys® Ribavirin International Co-infection Trial (APRICOT) diseñado con el fin de investigar la eficacia del tratamiento con Peg- $INF \alpha 2a$ y ribavirina en pacientes con hepatitis crónica VHC coinfectados por el VIH, se construyó el FIB-4, un índice simple que incluye la edad, los valores de GOT y GPT, y el recuento de plaquetas¹¹⁵. Dicho índice se validó con posterioridad en una población de pacientes mono infectados y alcanzó valores de predicción negativa (ausencia de fibrosis significativa) del 95% y positiva (presencia de fibrosis significativa F3/F4) del 82%, como figura en la **tabla 15**¹¹⁶.

Fórmula FIB4: $(\text{Edad} * AST) / \{\text{Plaquetas} * (ALT)^{1/2}\}$

Fib4 $< 1,45$ discrimina grado F0-F1-F2 y Fib4 $> 3,25$ discrimina grado F3-F4.

BIOPSIA HEPÁTICA (METAVIR)			
FIB 4 Index	F0-F1-F2	F3-F4	TOTAL
<1,45	94,7% (n=521)	5,3% (n=29)	550
1,45-3,25	73,0% (n=168)	27,0% (n=62)	230
>3,25	17,9% (n=12)	82,1% (n=55)	67
TOTAL	82,8% (n=701)	17,2% (n=146)	847

Tabla 15. Comparación del índice FIB-4 con resultados de biopsia hepática¹¹⁶. Reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons".

Otro índice elaborado en Japón (FibroIndex) incluye el recuento de plaquetas y los valores de GOT y gammaglobulinas¹¹⁷. Según sus autores, dicho índice permite valorar de forma longitudinal las variaciones de la fibrosis, lo cual podría resultar útil para medir el efecto de un supuesto tratamiento de ésta. Nos parece oportuno señalar que estos métodos serológicos deben utilizarse teniendo en cuenta los valores de corte idóneos para las predicciones que resultan más eficaces. Como puede observarse en la **tabla 16**, determinados índices, como el de Forns, son mejores para descartar la presencia de una fibrosis significativa, mientras que otros, como el APRI o el HALT-C, resultan más útiles en la confirmación de la presencia de fibrosis avanzada y/o cirrosis¹¹⁰.

INDICE	SIN FIBROSIS SIGNIFICATIVA			FIBROSIS SIGNIFICATIVA			SIN CIRROSIS		CIRROSIS	
	GRADO	INDICE	VPN	GRADO	INDICE	VPP	INDICE	VPN	INDICE	VPP
FORNS ¹¹²	F0/F1	<4,2	96%	F2/F4	>6,9	66-79%				
APRI ¹¹³	F0/F1	<0,50	90%	F3/F4	>1,50	91%	<1	100%	>2	65%
HALT-C ¹¹⁴	F0/F1						<0,2	86%	>0,5	75%
FIB-4 ¹¹⁶	F0/F1	<1,45	95%	F3/F4	>3,25	82%				
FIBROINDEX ¹¹⁷	F0/F1	<1,25		F2/F3	>2,25					

Tabla 16. Valores de corte y valores predictivos de los diferentes índices serológicos de fibrosis que utilizan pruebas comunes de laboratorio¹¹⁰. (Reproducido con permiso).

Marcadores serológicos combinados.

En este apartado se incluye una serie de índices que combinan parámetros serológicos sistemáticos con marcadores de fibrogénesis. El primero de los índices de este grupo fue el conocido con el nombre de Fibrotest®, de uso común en Francia y del que hasta 2001 no se conocían sus componentes, ya que se realizaba únicamente, de forma comercial, en determinados laboratorios a partir del envío de una muestra de sangre del paciente. La fórmula de dicho índice incluye edad, sexo, GGT, bilirrubina, alfa-2-microglobulina,

haptoglobina y apolipoproteína A1¹¹⁸. Los valores predictivos publicados de dicho índice son muy altos y alcanzan el 100% de predicción de ausencia de fibrosis y el 90% de presencia de fibrosis superior a F2. El Fibrometer®, otro test similar también diseñado en Francia, incluye recuento de plaquetas, protrombina, edad, urea, alfa-2-microglobulina y ácido hialurónico¹¹⁹.

Dicho test consigue altos valores de predicción, tanto en hepatopatías de origen viral como de etiología alcohólica. Finalmente, el Hepascore, otro índice diseñado en Australia, combina la edad, sexo, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico, bilirrubina y GGT, y también alcanza altos valores predictivos de fibrosis en pacientes con hepatitis C¹²⁰.

Utilidad de los métodos incruentos de evaluación de la fibrosis en la práctica clínica.

Los métodos descritos de evaluación incruenta de la fibrosis pueden resultar útiles en varios aspectos de la práctica clínica sistemática. En primer lugar, y como ya se ha comentado con anterioridad, pueden permitir la evaluación inicial del paciente en sustitución de la biopsia hepática. En segundo lugar, pueden utilizarse en el control periódico del paciente con la finalidad de evaluar si se produce progresión de la enfermedad. Esta situación puede ser relevante a la hora de tomar decisiones como, por ejemplo, un posible retratamiento de la hepatitis C. Finalmente, nos pueden ayudar a diagnosticar la presencia de cirrosis, situación que, además de su importancia en el pronóstico de la enfermedad, nos obliga a realizar otras exploraciones para la evaluación de la hipertensión portal y sus complicaciones, así como un control clínico más frecuente que permita el correcto cribado del CHC.

Evidentemente, y al igual que la propia biopsia hepática, estos métodos tienen claras limitaciones para conseguir los objetivos mencionados. En general, resultan muy eficaces en la diferenciación de los casos con poca o nula fibrosis (F0/F1) de los que la tienen en fases avanzadas (F3/F4), pero su eficacia disminuye en la distinción de grados más próximos de fibrosis. Por otra parte, pocos de dichos métodos han sido evaluados de forma longitudinal en un mismo paciente, por lo que su eficacia en la valoración de la progresión o una eventual regresión de la enfermedad no se ha demostrado. Finalmente, la mayoría de ellos se ha descrito en pacientes con HCC y sólo algunos se han probado en hepatopatías de otras etiologías, con lo que las pruebas científicas disponibles en este sentido son todavía escasas¹¹⁰.

Es importante señalar que, hoy en día, parece claro que el uso de uno o varios de dichos métodos deberían incorporarse paulatinamente a la práctica clínica sistemática y, por tanto, las futuras recomendaciones o documentos de consenso deben incluir la necesidad de su utilización con la finalidad, entre otras, de justificar las inversiones necesarias para su implementación en los distintos grupos de hepatología. Sin embargo, en el

momento de decidir cuál o cuáles de dichos métodos utilizaremos en nuestra práctica clínica deben tenerse en cuenta algunas consideraciones.

En primer lugar, y como puede deducirse de lo expuesto en los apartados anteriores, su efectividad y sus limitaciones resultan similares, aunque pueden mejorar mediante el uso combinado de más de uno de dichos métodos. En segundo lugar, hay notables diferencias en los costes económicos de los distintos métodos. Fibroscan® tiene un elevado coste de adquisición y precisa de una persona que lo realice, aunque el tiempo necesario es corto (± 5 minutos) y no necesita ningún tipo de instalación especial. Los tests basados en marcadores de fibrogénesis, ya sea solos o de forma combinada, tienen un coste variable y, en general, no se utilizan en la práctica sistemática. Por último, los métodos que utilizan pruebas comunes de laboratorio son, como es lógico suponer, mucho más económicos y únicamente precisan algún tipo de hoja de cálculo electrónica que facilite la obtención del resultado. En este sentido, y teniendo en cuenta que la mayoría de laboratorios hospitalarios utiliza sistemas informáticos para entregar los resultados, parece razonable solicitar la inclusión de uno o varios de dichos índices, ya que ello sólo precisa el diseño del cálculo correspondiente. En nuestra propia experiencia, disponer de varios de dichos índices en la visita del paciente permite, en la mayoría de los casos, realizar una correcta evaluación del ritmo de progresión de la enfermedad, así como establecer el diagnóstico de sospecha de cirrosis¹¹⁰.

En conclusión, en nuestro medio, parece razonable la implementación de la elastografía en la práctica clínica hospitalaria de la hepatología, aunque su eficacia puede mejorar si se dispone, además, de otros tests serológicos de evaluación de la fibrosis. En los casos en que, por el momento, no se pueda disponer de dicha técnica, parece recomendable el uso de índices serológicos sencillos confeccionados con las pruebas sistemáticas para la correcta evaluación y seguimiento de los enfermos con hepatopatía crónica¹¹⁰.

JUSTIFICACIÓN.

En la actualidad el VHC constituye la causa más prevalente de hepatitis crónica en los países desarrollados. Se estima que el 3 % de la población mundial sufre una infección crónica por VHC. En España la HCC representa la primera causa de cirrosis hepática, antes que el consumo excesivo de alcohol pero el conocimiento que actualmente se tiene en España de la epidemiología de la hepatitis C es aún escaso y fragmentario, estimándose una prevalencia que oscila entre el 1,6 y 2,6 % de población. Esta estimación tropieza con la dificultad de que la infección se mantiene silente durante muchos años y puede no detectarse hasta que produce una hepatopatía clínicamente manifiesta.

Aproximadamente, el 80 % de los pacientes infectados por virus C son portadores crónicos. Un tercio de ellos desarrollaran una cirrosis hepática en los siguientes 20 años, y hasta un 7 % de los pacientes con cirrosis presentarán un hepatocarcinoma. Los pacientes con cirrosis por el VHC constituyen el 50% de los que requieren un trasplante hepático y el 70-80% de los que padecen un hepatocarcinoma. Sin embargo, aproximadamente dos tercios de los portadores crónicos presentarán una infección crónica clínicamente asintomática, que en ausencia de otros factores adyuvantes se mantendrá estable o con una lenta evolución del grado de fibrosis hepática. Constituye un grave problema de salud en nuestro país, siendo una causa muy importante de morbilidad y mortalidad; y sus importantes repercusiones clínicas en la actualidad y en un futuro cercano, obligan a prestarle una especial atención.

Por otro lado, la fibrosis hepática define el pronóstico de la hepatitis crónica por VHC y es fundamental en la indicación de tratamiento antiviral. En cualquier enfermedad crónica hepática el pronóstico del paciente viene determinado, fundamentalmente, por el desarrollo y la extensión de la fibrosis. El proceso suele ser progresivo, pero también puede permanecer estable, o incluso, y en contra de lo que se pensaba, parece que puede revertir al cabo del tiempo, tanto desde fibrosis avanzada como desde cirrosis.

La biopsia hepática sigue siendo el procedimiento diagnóstico de elección para evaluar la fibrosis hepática. No obstante, se trata de una técnica poco aceptada por el paciente, requiere ingreso hospitalario y no está exenta de complicaciones. Además, hay que considerar las limitaciones a la hora de interpretar la biopsia hepática; por un lado, la variabilidad intra e interobservador, en función del adiestramiento, la dedicación y sobretodo del tamaño de la biopsia, y por otro, el error de muestra que infraestima la fibrosis hasta en un 20% de los casos.

Entre los nuevos métodos de evaluación no cruenta de la fibrosis hepática, la técnica de elastografía unidimensional o FibroScan® se ha revelado cómo un nuevo método inocuo, sencillo, rápido, y objetivo para la evaluación de la fibrosis. En la mayoría de los trabajos se describe una asociación estadísticamente significativa entre la medida de la elasticidad hepática obtenida con FibroScan® y los distintos estadios de fibrosis obtenidos mediante el análisis histológico. Según los autores, la capacidad diagnóstica del FibroScan® sería mayor en la identificación de la fibrosis grave o la cirrosis, y resultaría menos exacta en el diagnóstico de los estadios iniciales e intermedios. Sin embargo, es una técnica que hoy día todavía no se encuentra disponible en muchos centros hospitalarios, como por ejemplo el nuestro.

Por estos motivos, en los últimos años se ha producido una explosión en el campo del diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática. El diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática debería utilizar marcadores fáciles de obtener, reproducibles y finos a la hora de diferenciar entre distintos estadios de fibrosis. Un test no invasivo ideal debería ser simple, barato, exacto, disponible, reproducible, sensible a los efectos del tratamiento y válido para detectar la progresión de la enfermedad. Sería de importancia capital que estos marcadores fueran capaces de captar los cambios que se producen en el tiempo y, por tanto, pudieran diferenciar entre fases diferentes de una enfermedad. Es bien conocido, por ejemplo, que los pacientes con HCC se pueden clasificar en «fibrosadores rápidos» y «fibrosadores lentos», pero no es menos cierto que esta velocidad de progresión puede variar en el tiempo. Dado que hay evidencias sobre la reversibilidad de la fibrosis hepática, estos marcadores deberían también ser útiles para el seguimiento de los cambios en la fibrosis hepática que se producen tras la administración de tratamientos.

Desde un punto de vista teórico, la utilización de análisis habituales como marcadores indirectos del grado o estadio de fibrosis hepática es muy atractiva. Estos marcadores no tienen relación directa con la fisiopatología de la producción o degradación de colágena en el hígado, sino que miden o reflejan las consecuencias del depósito de fibra en el órgano. La mayoría de métodos basados en tests serológicos simples identifican o excluyen, con mayor o menor fiabilidad, la presencia de una enfermedad hepática avanzada. En los pacientes con HCC, se han propuesto varias puntuaciones que combinan diferentes marcadores, como la edad, la cifra de plaquetas, la relación GOT/GPT y el tiempo de protrombina. El principal problema de estas puntuaciones es que no son suficientemente sensibles para identificar a los pacientes con poca fibrosis (estadios 0-2); en algunos casos, tampoco se ha realizado una validación de éstos en grandes cohortes.

Hoy día, ni el genotipo ni la carga viral se han asociado hasta el momento con el grado de fibrosis; es decir no predicen la severidad del daño hepático o fibrosis ni el riesgo de enfermedad extrahepática. Hasta este momento tanto la carga viral como el genotipo se han utilizado en la toma de decisiones terapéuticas y en la monitorización y en la evaluación de la respuesta virológica al tratamiento antiviral.

La velocidad de progresión de la fibrosis tiene una amplia variabilidad interpersonal; de tal forma que factores como la edad por encima de 50 años, sexo varón, o consumo elevado de alcohol, se han relacionado con la evolución de la fibrosis hepática. Además de estos factores externos, la susceptibilidad genética, factores histológicos como la actividad necroinflamatoria, la esteatosis o la sobrecarga de hierro, y otros como la RI y la inmunosupresión farmacológica, incrementan la probabilidad de progresar hacia

cirrosis. En este sentido, quizás la carga viral ni el genotipo por si solos sean capaces de predecir el grado de fibrosis hepática pero puesto que no todos los sujetos son iguales y existe una gran variabilidad interpersonal, la combinación de la carga viral y el genotipo, si nos permita en combinación con otros factores predecir la evolución de la fibrosis.

El objetivo de esta tesis sería conocer la situación epidemiológica y analítica de los pacientes con HCC en la provincia de Jaén, durante periodo determinado de tiempo. También se ha pretendido estudiar las variables que podrían explicar el desarrollo de fibrosis, cirrosis y hepatocarcinoma en estos pacientes, considerando la carga viral y el genotipo.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS



HIPÓTESIS.

Aunque el presente estudio es un estudio “observacional” y aunque como tal, “de forma estricta” no tendría cabida una hipótesis en “términos formales”; podríamos plantearnos la siguiente hipótesis:

La cuantificación de la carga viral y el genotipo puede predecir el estadio de fibrosis en los pacientes con hepatitis C.

OBJETIVOS GLOBALES.

1. Conocer la frecuencia de HCC en la población de referencia del Complejo Hospitalario de Jaén.
2. Conocer las características epidemiológicas, virológicas y analíticas de estos pacientes.
3. Conocer el grado de afectación hepática o fibrosis de los sujetos incluidos así, como la proporción de pacientes en estadio de cirrosis y con hepatocarcinoma asociado.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

4. Conocer las variables asociadas al desarrollo de fibrosis hepática. En especial, evaluar si la carga viral y el genotipo influyen en el desarrollo de la misma.
5. Conocer las variables asociadas al desarrollo de cirrosis.
6. Conocer las variables asociadas a la aparición de hepatocarcinoma.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA



TIPO O DISEÑO DEL ESTUDIO.

Se trata de un estudio **observacional** ya que el objeto de estudio no es controlado por nosotros, limitándonos a observar y medir; **descriptivo** puesto que los datos son utilizados con una finalidad descriptiva, no buscando una relación causa-efecto aunque si nos permite establecer relaciones de asociación; y **transversal** porque los datos se han recogido en un determinado momento del tiempo. Dicho estudio observacional se ha realizado en base a un registro hospitalario llevado a cabo en el Complejo Hospitalario de Jaén.

POBLACIÓN DE ESTUDIO O DIANA.

Se incluyen de forma prospectiva todos los pacientes diagnosticados de hepatitis crónica C con anticuerpos positivos, a los que se les realiza carga viral y genotipo, junto con ecografía abdominal y una analítica completa con hemograma, bioquímica y coagulación, que acuden al Complejo Hospitalario de Jaén, durante el periodo comprendido 1 Enero 2008 hasta 30 Junio 2010, los cuales son recogidos a través de:

- Consultas externas aparato digestivo: Se recogen todos los pacientes con hepatitis C, que acuden a consultas externas ambulatorias, existiendo en nuestro Hospital una consulta semanal monográfica de hepatología.
- DIRAYA: Es el sistema que se utiliza en el sistema sanitario público de Andalucía como soporte de la historia clínica electrónica. Integra toda la información de salud de cada ciudadano, para que esté disponible en el lugar y momento en que sea necesario para atenderle, y sirve también para la gestión del sistema sanitario. A través de este sistema informático, se investigan los pacientes diagnosticados de hepatitis C y cuya patología se haya registrado en la lista de problemas.
- Ingresos hospitalarios: Se recogen todos los pacientes ingresados en nuestro hospital desde la fecha de comienzo del estudio con VHC como diagnóstico principal o secundario.

POBLACIÓN DE REFERENCIA O ÁMBITO DEL ESTUDIO.

Abarca el área hospitalaria suroeste de Jaén, constituida por el Hospital Dr. Sagaz, Hospital materno-infantil, Hospital Neurotraumatológico, Complejo Hospitalario de

Jaén, Centro de diagnóstico y tratamiento Ciudad de Jaén y C.P.E de Alcalá la Real. Dicha área hospitalaria está compuesta por 31 municipios y comprende unos 333.078 habitantes (ajustada a efectos de financiación C.P. 2006).

PERIODO DE ESTUDIO.

La captación de pacientes se ha realizado en el periodo comprendido entre 1 Enero 2008 hasta 30 Junio 2010 (ambos inclusive).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Criterios de inclusión.

- Pacientes con hepatitis crónica VHC (detectada mediante positividad anti-VHC, (con carga viral positiva y genotipo) con o sin lesiones necroinflamatorias leves, moderadas o graves y/o fibrosis.
- Positividad del ARN del VHC detectado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el momento de la inclusión en el estudio.
- Cirrosis hepática VHC compensada o descompensada, considerando que la cirrosis está compensada, cuando se encuentra en una fase asintomática, y entendiendo por cirrosis descompensada cuando se desarrollan complicaciones secundarias a la hipertensión portal y/o insuficiencia hepática tales como ascitis, hemorragia digestiva, encefalopatía hepática y síndrome hepatorenal.
- Edad mayor de 13 años, excluyendo a la población pediátrica ya que no forma parte de nuestra población de estudio.

Criterios de exclusión.

- Enfermedades con afectación hepática de otras etiologías (hemocromatosis, enfermedad de Wilson, hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, hepatotoxicidad por drogas, hepatitis crónica por VHB, hepatitis alcohólica, positividad a VIH. Todos los pacientes tienen analítica para la detección de VHB, VIH, autoanticuerpos como ANA (anticuerpos antinucleares), anti LKM 1 (anticuerpos antimicrosomales de hígado y riñón), ASMA (anticuerpos anti músculo liso y AMA (anticuerpos antimitocondriales), ceruloplasmina, metabolismo de fe y alfa 1 antitripsina.

- Consumo de alcohol mayor de 20 gramos al día u otras drogas, determinado mediante anamnesis. Para calcular el contenido en gramos de una bebida alcohólica basta con multiplicar los grados de la misma por la densidad del alcohol (0,8). Gramos de alcohol = [volumen en cc x graduación x 0,8]/100^{121,122}.
- Tratamiento previo con interferones o análogos de nucleósidos y nucleótidos, es decir fármacos capaces de inhibir la replicación viral, o potenciadores de la respuesta inmune contra las células infectadas.

VARIABLES DEL ESTUDIO.

Las variables se han seleccionado en función de la información obtenida recogida en la Historia Clínica Digital (DIRAYA), en las historias clínicas procedentes del Archivo Central, y a través del sistema del sistema informático del laboratorio de inmunología de nuestro hospital.

VARIABLES dependientes o variables resultado estudiadas.

A. FIBROSIS:

La fibrosis es uno de los cambios histológicos más característico de las hepatopatías inflamatorias crónicas. Consiste en un aumento muy marcado de los componentes de la llamada matriz extracelular como consecuencia de un desequilibrio entre su formación y degradación, y en respuesta a agresiones muy diversas, incluido el abuso de alcohol, las hepatitis virales, los tóxicos, la obstrucción biliar o las acumulaciones de hierro o cobre, entre otros⁴⁵.

El modelo utilizado para la estadificación de la fibrosis es el METAVIR (*METAVIR scoring system*) que fue diseñado específicamente para pacientes con HCC. METAVIR mide la fibrosis en una escala de 0-4⁸⁹:

- F0: Ausencia de fibrosis.
- F1: Fibrosis portal sin septos.
- F2: Fibrosis portal con algunos septos.
- F3: Numerosos septos sin cirrosis.
- F4: Cirrosis.

Para la valoración del grado de fibrosis hepática hemos empleado métodos diagnósticos no invasivos aceptados para predecir la fibrosis hepática, lo que permite una valoración global que evite el error de muestra y la realización de una prueba cruenta, analizando

parámetros obtenidos en la práctica clínica habitual, como el índice Forns, el índice APRI y el índice FIB4⁹⁹.

Puesto que la detección de pacientes en estadio F2 o superior conlleva importantes implicaciones clínicas pues, en la mayoría de los casos, se considera el umbral para iniciar el tratamiento (es elegido como punto de corte para el inicio de tratamiento), se considera *fibrosis leve* cuando el estadio de fibrosis es igual o inferior a F1 (F0-F1) y *fibrosis significativa*, cuando se informa un estadio de fibrosis igual o superior a F2 (F2-F3-F4)⁸⁹.

Grado de fibrosis según modelo Forns (F0-F1 vs F2-F4).

Variable cualitativa dicotómica, calculada mediante fórmula Forns, según la cual clasifica a los pacientes en **fibrosis no significativa (F0-F1)** y **fibrosis significativa (F2-F4)**. El modelo de Forns et al combina 4 variables (edad, GGT, plaquetas y colesterol); a partir de un análisis multivariante en una cohorte de estimación, alcanzan una fórmula según la cual un resultado inferior a 4,2 selecciona a los pacientes con fibrosis no significativa (F0-F1), con un área bajo la curva (ABC) de 0,81. Este método podría descartar la presencia de fibrosis significativa (F2-F3-F4) con un 96% de seguridad cuando la puntuación es menor de 4,2 y, por tanto, evitaría la realización de una biopsia hepática percutánea en más de un tercio de los pacientes con hepatitis crónica por virus C¹¹².

Fórmula FORNS: 7.811-A +B +C- D

A= 3.131* In(plaquetas), B= 0.781* In(GGT), C= 3.467 * In (edad) y D=0.014*colesterol.

Forns < 4,2 discrimina grado F0-F1 y Forns >6,9 discrimina grado F2-F4.

Grado de fibrosis según modelo APRI 1 (F0-F1 vs F2-F4).

Variable cualitativa dicotómica, calculada mediante fórmula APRI, permite clasificar a los pacientes en **ausencia de fibrosis significativa (F0-F1)** o **presencia de fibrosis significativa (F2-F4)**. El índice APRI: AST Platelet Ratio Index, (que incluye sólo GOT y plaquetas) podía predecir la ausencia de fibrosis significativa (APRI ≤ 0,50) o presencia de fibrosis significativa (APRI > 1,5). Esto permite que se pueda identificar con seguridad a un 51% de los pacientes sin fibrosis significativa, con un ABC de 0,83 y un valor predictivo negativo (VPN) del 86% cuando su resultado es inferior a 0,50¹¹³.

Fórmula APRI: $\{(AST/\text{limite superior de normalidad de AST})/\text{plaquetas}\} * 100$

APRI $\leq 0,5$ discrimina grado F0-F1 y APRI $> 1,5$ discrimina grado F2-F4.

Grado de fibrosis según modelo APRI 2 (F0-F3 vs F4).

Variable cualitativa dicotómica, calculada mediante fórmula APRI, permite clasificar a los pacientes en **ausencia de fibrosis significativa (F0-F3)** o **presencia de fibrosis significativa (F4)**. De igual forma, pero utilizando otro punto de corte (APRI ≤ 1 y APRI > 2) la ausencia o presencia de fibrosis puede ser identificada en 81 % pacientes, empleando la misma fórmula¹¹³.

Fórmula APRI: $\{(AST/\text{limite superior de normalidad de AST})/\text{plaquetas}\} * 100$

APRI ≤ 1 discrimina F0-F3 y APRI > 2 discrimina grado F4.

Grado de fibrosis según modelo FIB 4 (F0-F1-F2 vs F3-F4).

Variable cualitativa dicotómica, calculada mediante fórmula FIB4 permite clasificar a los pacientes en **ausencia de fibrosis significativa (F0-F1-F2)** o **presencia de fibrosis significativa (F3-F4)**. El índice FIB4 permite la correcta identificación de pacientes con fibrosis severa (F3-F4) y cirrosis, con un ABC de 0.85 (95% CI 0.82-0.89) y 0.91 (95% CI 0.86-0.93), respectivamente. Un índice FIB4 < 1.45 tiene un valor predictivo negativo de 94.7 % para excluir fibrosis severa con una sensibilidad de 74.3 %. Un índice FIB4 mayor de 3.25 tiene un valor predictivo positivo para confirmar la existencia de fibrosis significativa (F3-F4) de 82.1 % con una especificidad de 98.2%¹¹⁶.

Fórmula FIB4: $(\text{Edad} * \text{AST}) / \{\text{Plaquetas} * (\text{ALT})^{1/2}\}$

Fib4 $< 1,45$ discrimina grado F0-F1-F2 y Fib4 $> 3,25$ discrimina grado F3-F4.

Grado de fibrosis global.

Variable cualitativa dicotómica que permite clasificar a los pacientes **en ausencia de fibrosis significativa o presencia de fibrosis significativa**, mediante la combinación de los cuatro parámetros anteriores. Los pacientes cirróticos son directamente clasificados como fibrosis significativa. Cuando los grados de fibrosis según modelos

Forns, APRI y FIB4 no coincidían entre si, estos eran considerados como **no clasificados** (valores perdidos).

B. CIRROSIS:

Variable cualitativa dicotómica (cirrosis SI/NO). El concepto de cirrosis hepática es fundamentalmente morfológico. Se define como una alteración difusa de la arquitectura del hígado por fibrosis y nódulos de regeneración. Estos cambios condicionan una alteración vascular intrahepática y una reducción de la masa funcional hepática, cuyas consecuencias son el desarrollo de hipertensión portal y la aparición de insuficiencia hepática. El término de cirrosis hepática compensada se aplica cuando la enfermedad no ha desarrollado ninguna de sus complicaciones mayores: ascitis, hemorragia digestiva, ictericia y encefalopatía hepática⁴⁶.

La cirrosis hepática se diagnóstico por la combinación de los tres siguientes:

- a) Hallazgos ecográficos indicativos de cirrosis como presencia de signos de hipertensión portal (esplenomegalia, ascitis...).
- b) Hallazgos analíticos indicativos de hiperesplenismo (plaquetopenia, pancitopenia) y/o fallo hepatocelular (reducción del tiempo de protrombina, hipoalbuminemia).
- c) Hallazgos clínicos tales como ascitis y/o varices esofágicas.

Los casos que no reunían la asociación de estos tres criterios clínico, analítico y de imagen fueron considerados no cirróticos.

Los hallazgos ecográficos de la cirrosis son¹²³:

- Alteración de la ecogenicidad del parenquima hepático (superficie nodular y ecoestructura de grano grosero heterogéneo).
- Detección de alteraciones estructurales del órgano (contorno irregular, hipertrofia del lóbulo caudado cuando el diámetro es mayor de 4 cm, atrofia del lóbulo hepático derecho cuando el diámetro longitudinal es menor de 9 cm). La relación en un corte transversal epigástrico entre el diámetro transversal de los lóbulos caudado y derecho > 0,65 es diagnóstico de cirrosis con una especificidad cercana al 100%.
- Presencia de signos indirectos que sugieren la existencia de complicaciones de la enfermedad (aumento del diámetro de los vasos esplenoportales por encima de 1 cm, ascitis, esplenomegalia cuando el diámetro del bazo es mayor de 13 cm, trombosis portal.).

C. HEPATOCARCINOMA:

Variable dicotómica con dos categorías: Ausencia o presencia de CHC; definido como nódulo con un diámetro > 2 cm con hipervascularización arterial con dos técnicas de imagen (ultrasonografía, TC, RNM, arteriografía) o si la lesión hipervascular en una sola técnica de imagen se acompaña de una concentración de AFP > 400 ng/dl^{41,124}.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

DATOS IDENTIFICATIVOS:

Por orden numérico correlativo, asegurándose el anonimato, y la confidencialidad de la información de acuerdo a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y a las medidas de seguridad que impone la citada Ley Orgánica y sus reglamentos de desarrollo.

EDAD:

Variable cuantitativa discreta, expresada como años cumplidos en el momento de la recogida de datos.

EDAD CATEGORIZADA:

En nuestro estudio se convirtió dicha variable cuantitativa en variable cualitativa al crear diferentes grupos de edad, para *valorar la distribución por sexo*. Se categorizó la variable edad en 4 categorías o grupos de edad, manteniendo una correspondencia similar a la empleada en otros grupos relevantes.

- Menor de 25 años.
- De 25 a 45 años.
- De 46 a 65 años.
- Mayor de 65 años.

Para el resto del estudio se empleó la variable edad como cuantitativa por su mayor potencia estadística.

SEXO:

Variable cualitativa dicotómica con dos categorías: mujer/hombre.

VARIABLES BIOQUÍMICAS:

Variables cuantitativas continuas, donde los valores de referencia utilizados en nuestro hospital se expresan entre paréntesis (**tabla 17**).

VARIABLE	SIMBOLO	VALORES REFERENCIA	UNIDADES
Hemoglobina	Hb	12-18	gr/dl
Hematocrito	Hto	17-52	%
Volumen corpuscular medio	VCM	89-99	fl
Hemoglobina corpuscular media	HCM	27-31	pg
Leucocitos		5,2-12x10e9	Nº/L
Plaquetas		130-400x10e9	Nº/L
Tiempo de protrombina	TP	10,0-15,0	segundos
Actividad de protrombina		75,0-120,0	%
Glucosa		75-105	mg/dl
Urea		10-50	mg/dl
Creatinina	Crea	0,60-1,10	mg/dl
Ácido úrico		3,4-7	mg/dl
Colesterol total		80-220	mg/dl
Triglicéridos		50-150	mg/dl
Bilirrubina total	Bt	0,00-1,00	mg/dl
Transaminasa glutámico oxalacética	GOT-AST	10-38	U/L
Transaminasa glutámico pirúvica	GPT-ALT	10-50	U/L
Gamma glutamil transferasa	GGT	0-55	U/L
Fosfatasa alcalina	FA	34-104	U/L
Lactico deshidrogenasa	LDH	249-480	U/L
Hierro	Fe	59,0-158,0	µg/dL
Proteínas totales	Pt	6,4-8,3	gr/dl
Albúmina	Alb	3,20-5,30	gr/dl
Alfafetoproteína	AFP	0,0-20,0	ng/mL

Tabla 17: Tabla representativa de variables cuantitativas con sus correspondientes valores de referencia y unidades.

ANTICUERPOS VHC (ANTI-VHC):

Variable cualitativa dicotómica (SI/NO). En nuestro caso 100 % pacientes presentan anti-VHC positivos, puesto que es criterio inclusión. La detección de anticuerpos del VHC se realizó mediante ARCHITECT Anti-HCV assay (ABBOTT Diagnostics

Division)¹²⁵ que se trata de un un inmunoensayo quimioluminiscente sobre microparticulas en suero o plasma.

El ensayo está diseñado para detectar anticuerpos frente a proteínas estructurales y no estructurales del genoma del VHC mediante la utilización de proteínas recombinantes.

La presencia o ausencia de anti-VHC es determinada en la muestra comparando la señal quimioluminiscente en la reacción con el punto de corte señal determinado de una calibración previa. Si la señal quimioluminiscente en la muestra es mayor o igual al punto de corte, la muestra se considera reactiva para anti-VHC. Muestras con cociente Simple RLU (relative light units)/Cutoff RLU <1 negativo, 1-3 resultado dudoso (en este caso se recomienda la utilización de una técnica confirmatoria) y >3 positivo.

Esta prueba tiene una especificidad del 99,60% y una sensibilidad del 99,10%.

RNA PCR (UI/ML) Y RNA PCR (LOG):

Variable cuantitativa continua expresada en UI/ml. La cuantificación de la carga viral del VHC se ha realizado con el ensayo Cobas® Ampliprep / Cobas® Taqman HCV test (Roche Diagnostics S.L)¹²⁶, que es una técnica de detección de PCR en tiempo real. La prueba se basa en la amplificación de ácidos nucleicos para la determinación cuantitativa de ARN del VHC en plasma o suero humano. La técnica esta basada en tres procesos principales:

1. Preparación de las muestras para el aislamiento del ARN del virus.
2. Transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario.
3. Amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea de una sonda de detección oligonucleótida doblemente marcada y escindida, específica del objetivo.

La detección utiliza la tecnología de PCR en tiempo real. El uso de sondas doblemente marcadas permite detectar en tiempo real la intensidad de emisión de fluorescencia.

La prueba está estandarizada frente al primer patrón internacional de la OMS para ARN del VHC en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos y los valores de concentración se comunican en UI/mL (el límite de detección de esta prueba es de 15 UI/ml).

GENOTIPO:

Variable cualitativa nominal con 6 categorías (genotipos 1 a 6). La prueba de genotipificación del VHC empleada es LINEAR ARRAY HCV Genotyping Test (Roche Diagnostics, S.L)¹²⁷. Se trata de una prueba in vitro para la determinación del

genotipo (GT1-GT6) del VHC en pacientes confirmados como positivos para la infección crónica por VHC. Esta técnica utiliza la transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario, la amplificación del ADNc objetivo mediante la PCR y la hibridación de ácidos nucleicos para la determinación genotípica del ARN del VHC en plasma con EDTA o suero humano.

La prueba de genotipificación se basa en cinco procesos principales:

1. Preparación de la muestra
2. Transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario (ADNc).
3. Amplificación mediante PCR del ADNc usando iniciadores complementarios específicos para el VHC.
4. Hibridación de los productos amplificados con sondas oligonucleotídicas específicas para los objetivos
5. Detección del ADN amplificado fijados a las sondas oligonucleotídicas específicas del genotipo mediante determinación colorimétrica, que permiten la identificación independiente de los distintos genotipos del VHC.

La especificidad clínica de la prueba de genotipificación es >99.9%.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico sólo pretende realizar un estudio exploratorio mediante la búsqueda de asociaciones y en ningún caso la de formular un modelo “absoluta o universalmente predictivo”, o explicativo de la realidad. De ahí que se minimicen las consideraciones que tienen que ver con el ajuste de las curvas de función de la distribución de probabilidad de las distintas variables, ni se haga ningún análisis del diagnóstico de los modelos, entendiéndose que para nuestros propósitos la regresión logística binaria consigue estimadores suficientemente robustos¹²⁸.

El estudio estadístico se ha realizado mediante los siguientes paquetes estadísticos:

- 1) El paquete estadístico SPSS 15 versión española (SPSS® Inc. Chicago, Illinois, USA.); cuyo número de serie es propiedad de la FIBAO (Fundación de investigación biosanitaria de Andalucía Oriental), y de la Unidad de Apoyo a la Investigación del Complejo Hospitalario de Jaén.

2) El R 2.9.1 statistical packages (versión libre GNU® system Free Software Foundation. Boston, MA 02110-1301, USA).

En primer lugar se realizó un análisis descriptivo para variables cuantitativas, mediante medidas de tendencia central y medidas de dispersión; y para variables cualitativas, mediante distribución de frecuencias absolutas y relativas.

A continuación, sólo con una idea exploratoria, se realizaron los respectivos estudios univariantes. Dichos estudios univariantes fueron realizados para detectar asociaciones o diferencias entre los siguientes grupos: 1) desarrollo de fibrosis, 2) desarrollo de cirrosis; y 3) desarrollo de hepatocarcinoma. Dichos análisis univariantes se realizaron mediante:

- a) El test de Student o ANOVA, para el estudio de variables cuantitativas, tras evaluar la homocedasticidad de las varianzas mediante el test de Levene.
- b) La χ^2 de Pearson y el test exacto de Fisher fueron utilizados para comparar las variables cualitativas.

Se realizaron además los siguientes análisis multivariantes para:

- 1) Evaluar los factores relacionados con el desarrollo de fibrosis.
- 2) Evaluar los factores relacionados con el desarrollo de cirrosis hepática.
- 3) Evaluar los factores relacionados con el desarrollo de hepatocarcinoma.

Se incluyeron en los distintos análisis multivariantes todas las variables que presentaron diferencias estadísticamente significativas, o que fueron clínicamente relevantes. Siendo determinadas en el análisis multivariante las OR de cada variable independiente y sus intervalos de confianza al 95%.

El análisis multivariante se realizó mediante regresión logística binaria, incluyéndose en él, todas las distintas variables independientes, que fueron estadísticamente significativas o clínicamente significativas. El estudio se realizó mediante métodos por pasos: el método de selección por pasos seleccionado fue “hacia delante”, el cual contrasta la entrada basándose en la significación del estadístico de puntuación y contrasta la eliminación basándose en la probabilidad del estadístico de la razón de verosimilitud, que se basa en estimaciones de la máxima verosimilitud parcial.

La regresión logística binaria se realizó mediante el estadístico Wad y la puntuación eficiente de Rao. En algunas variables se establecerán un conjunto de variables indicadoras o “variables dummy”. Se realizó una prueba de la bondad del ajuste, en relación a la clasificación, para determinar la adecuada calibración del estudio de regresión logística. Dicha calibración se realizó mediante el test de Hosmer y

Lemeshow. Se consideró la existencia de validez y una adecuada calibración, cuando el valor de la p , para el test de Hosmer y Lemeshow fue mayor de 0,5; en el sentido que la hipótesis que se contrasta, es la existencia de diferencias entre las frecuencias de los casos observados y las frecuencias de los casos pronosticados. H_0 = El modelo es apropiado y H_1 = El modelo es inapropiado. El procedimiento consiste en dividir los casos en aproximadamente 10 clases y comparar para cada clase las frecuencias de los casos observados con los casos predichos, utilizando para ello el test de la χ^2 . Este procedimiento proporciona una medida global de la capacidad predictiva del modelo que no se basa en el valor de verosimilitud, sino en la predicción real de la variable dependiente. Una restricción en su uso es que se necesita contar con una muestra grande que asegure por lo menos cinco observaciones en cada grupo.

Por otro lado el test de la χ^2 es muy sensible al tamaño muestral y se puede encontrar significación estadística, en diferencias pequeñas, al aumentar el tamaño de la muestra. Para evaluar el ajuste global se han evaluado el coeficiente estadístico R^2 de Cox y Snell, junto al coeficiente R^2 de Nagelkerke, cuyos valores máximos se aproximan a 1; y ha sido considerado adecuado, si estos son mayores a 0,1. Se evaluará la existencia de variables confundentes o confusoras, y la posible interacción entre las distintas variables independientes. Se considerará como variable confusora la modificación de la “ β ” en un 10% en el análisis multivariante, o por el valor del estadístico de Mantel-Haenszel en el modelo bivariado. Será explorada la posible existencia de la paradoja de Simpson. Se evaluarán el grado de influencia mediante el índice de *De Cook* y los residuos mediante el *Método de Student*. Además se construirá un estudio discriminativo, mediante el área bajo la curva “Receiver Operating Characteristic” (ROC), para evaluar el análisis multivariante¹²⁹.

Los datos numéricos se expresan con su media \pm desviación típica. Las variables cualitativas se expresan como números absolutos y porcentajes. Fue considerado significación estadística, un valor de $p < 0,05$. Se expresan las distintas odds ratios tanto crudas, como ajustadas por las distintas variables independientes.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.

La obtención bibliográfica se ha realizado en las siguientes bases de datos:

Medline: a través de Pubmed (1956-2011).

Embase (1980-2011): es la versión automatizada del Excerpta Médica y tiene una mayor cobertura de revistas médicas europeas y asiáticas que Medline.

Índice Médico Español (1971-2011): base de datos del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, que recoge referencias bibliográficas de revistas médicas españolas.

The Cochrane Library: la Colaboración Cochrane es una organización internacional, que tiene como objetivo preparar, mantener y divulgar revisiones sistemáticas sobre los efectos de la atención sanitaria. Se inició formalmente en 1992. Elabora un conjunto de bases de datos denominada “The Cochrane Library” que agrupa a las siguientes:

The Cochrane Database of Systematic Reviews (CDSR).

Database of abstracts of Reviews of Effectiveness (DARE).

The Cochrane Controlled Trials Register (CCTR).

The Cochrane Review Methodology Database (CRMD).

La Biblioteca Virtual del Sistema Sanitario Público de Andalucía es una biblioteca electrónica que ofrece el acceso estructurado a una selección de recursos de información de calidad, en materia biosanitaria con recursos electrónicos y presenciales.

MOTOR DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.

Las palabras clave utilizadas han sido (en inglés y en español): liver fibrosis, chronic hepatitis C, liver cirrosis, non invasive serum markers, biomarkers, non invasive fibrosis tests, viral load, hepatitis C genotypes..

PRESENTACIÓN DE CITAS BIBLIOGRÁFICAS E IMÁGENES.

Las citas han sido referenciadas según las actuales normas de publicación del estilo de Vancouver¹³⁰.

Las figuras expuestas proceden y han sido extraídas de Internet, donde consta que son accesibles, libres y gratuitas. El resto de figuras que se incorporan al texto tienen dos orígenes; 1) creadas directamente para el desarrollo de esta tesis doctoral y 2) creadas por otros autores, que habiendo sido reproducidas completa o parcialmente, se obtiene una autorización previa del autor o de quien posea los derechos de reproducción. Ha sido solicitado permiso para reproducir otras figuras de “estudios considerados destacados”, en los que no se ha recibido el solicitado permiso, no pudiendo reproducirse dichas figuras.

APOYO INFORMÁTICO UTILIZADO.

La edición del texto ha sido realizada con el programa Word versión 2007. De igual forma se utilizan los programas Power Point, Microsoft Excel y el programa SPSS 15.0 para Windows, adobe acrobat, etc.

NORMAS ÉTICAS.

El presente estudio, siguen las actuales normas éticas y legales que rigen en nuestro Estado. Dicho registro se acoge a La Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal y al Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

De igual modo declaro, no tener ningún “*conflicto de intereses*” con ninguna organización privada, pues no colaboro con ninguna empresa farmacéutica, ni otra entidad privada. Mi labor profesional se limita de forma exclusiva como Facultativo Especialista de Aparato Digestivo del Complejo Hospitalario de Jaén,

CAPÍTULO IV

RESULTADOS



ANÁLISIS DESCRIPTIVO

ANÁLISIS DESCRIPTIVO VARIABLES DEPENDIENTES O VARIABLES RESULTADO.

GRADO DE FIBROSIS TOTAL.

De los 377 pacientes incluidos, los pacientes que presentaban fibrosis significativa (cuando se informa un estadio de fibrosis igual o superior a F2) fueron 133 (35,3%) y los que presentaban ausencia de fibrosis significativa (cuando el estadio de fibrosis es igual o inferior a F1) fueron 214 (56,8%). En 30 pacientes no se pudo predecir la presencia o ausencia de fibrosis significativa. (Tabla 18 y figura 9).

GRADO DE FIBROSIS	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
AUSENCIA	214	56,8	61,7	61,7
PRESENCIA	133	35,3	38,3	100,0
Total	347	92,0	100,0	
Perdidos	Sistema	30	8,0	
Total	377	100,0		

Tabla 18. Descriptivo de fibrosis significativa. Los pacientes que no han podido ser clasificados han sido considerados como "valores perdidos".

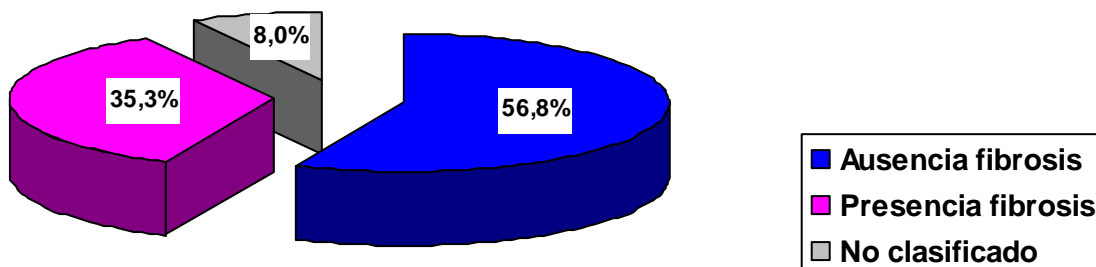


Figura 9. Distribución de la población estudiada según tengan o no fibrosis significativa.

GRADOS DE FIBROSIS SEGÚN FORNS.

El modelo Forns estableció fibrosis leve (F0-F1) en 94 pacientes (24,9%) y fibrosis avanzada en 125 pacientes (33,2 %). (Tabla 19 y figura 10).

FORNS		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	F0-F1	94	24,9	42,9	42,9
	F2-F4	125	33,2	57,1	100,0
	Total	219	58,1	100,0	
Perdidos	Sistema	158	41,9		
Total		377	100,0		

Tabla 19. Descriptiva de grado Fibrosis Forns.

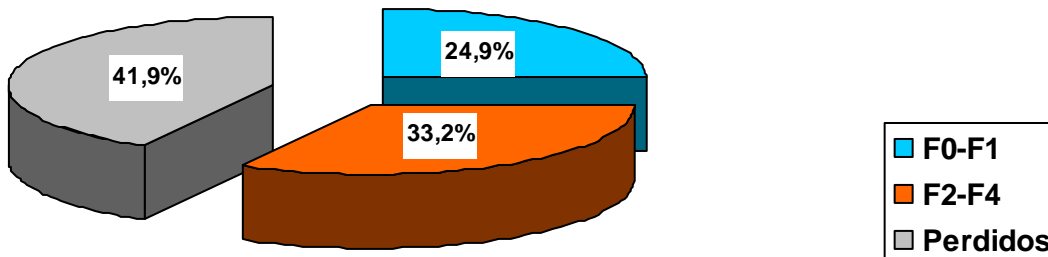


Figura 10. Distribución de la población estudiada según grado fibrosis Forns.

GRADO DE FIBROSIS APRI 1 (APRI < o igual 0,5 y APRI > 1,5).

El modelo APRI 1 (cuando empleaba 0,5 y 1,5 como puntos de corte) determinó fibrosis leve F0-F1 en 133 pacientes (35,3 %) y fibrosis avanzada en 91 (24,1%). (Tabla 20 y figura 11).

APRI 1		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	F0-F1	133	35,3	59,4	59,4
	F2-F4	91	24,1	40,6	100,0
	Total	224	59,4	100,0	
Perdidos	Sistema	153	40,6		
Total		377	100,0		

Tabla 20. Descriptivo de grado Fibrosis APRI 1.

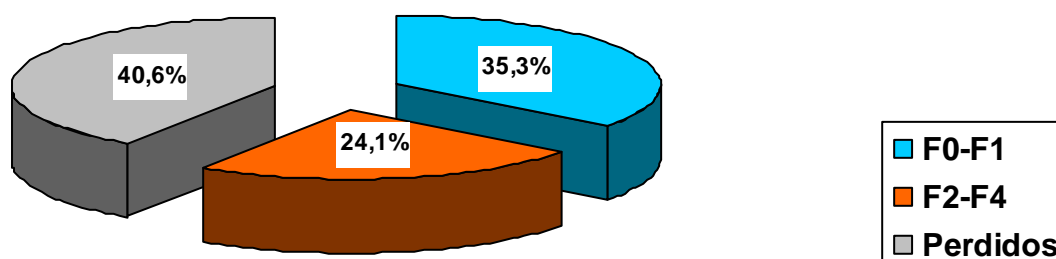


Figura 11. Distribución de la población estudiada según grado fibrosis APRI 1.

GRADO DE FIBROSIS APRI 2 (APRI < o igual a 1 y APRI > 2).

El modelo APRI 2 (cuando empleaba 1 y 2 como puntos de corte) determinó fibrosis leve (F0-F3) en 244 pacientes (64,7 %) y fibrosis avanzada (F4) en 66 pacientes (17,5 %). (Tabla 21 y figura 12).

APRI 2		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	F0-F3	244	64,7	78,7	78,7
	F4	66	17,5	21,3	100,0
	Total	310	82,2	100,0	
Perdidos	Sistema	67	17,8		
Total		377	100,0		

Tabla 21. Descriptivo de grado Fibrosis APRI 2.

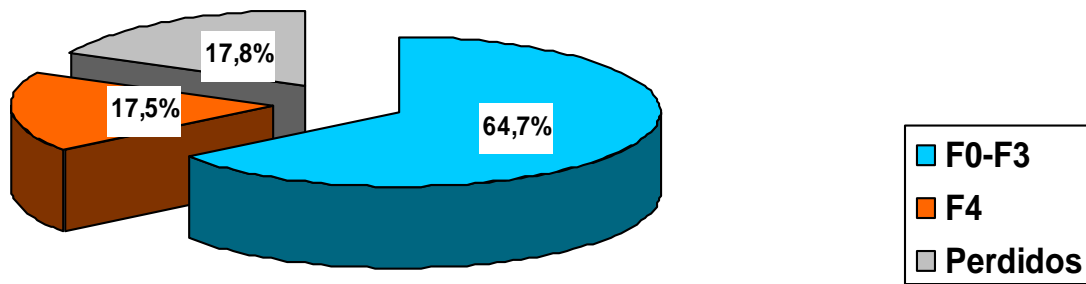


Figura 12. Distribución de la población estudiada según grado fibrosis APRI 2.

GRADO DE FIBROSIS FIB 4.

El modelo FIB 4 determinó fibrosis leve F0-F2 en 171 pacientes (45,4 %) y fibrosis avanzada F3-F4 en 95 pacientes (25,2 %). (Tabla 22 y figura 13).

FIB 4		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	F0-F2	171	45,4	64,3	64,3
	F3-F4	95	25,2	35,7	100,0
	Total	266	70,6	100,0	
Perdidos	Sistema	111	29,4		
Total		377	100,0		

Tabla 22. Descriptivo de grado fibrosis Fib4.

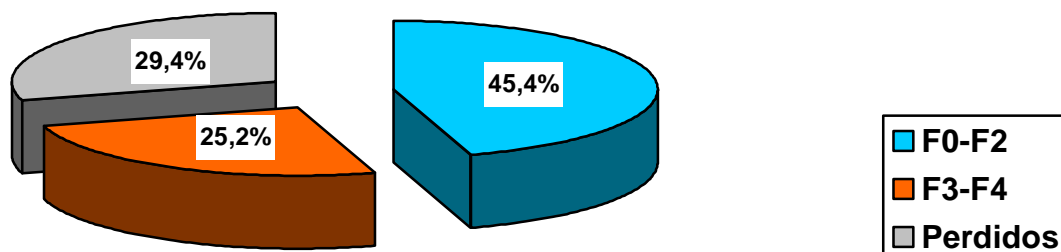


Figura 13. Distribución de la población estudiada según grado fibrosis Fib4.

CIRROSIS HEPÁTICA.

63 sujetos (16,7 %) presentaban cirrosis hepática frente a 314 (83,3%) que no. (Tabla 23 y figura 14).

CIRROSIS	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
NO CIRROTICOS	314	83,3	83,3	83,3
CIRROTICOS	63	16,7	16,7	100,0
Total	377	100,0	100,0	

Tabla 23. Descriptivo de variable cualitativa cirrosis.

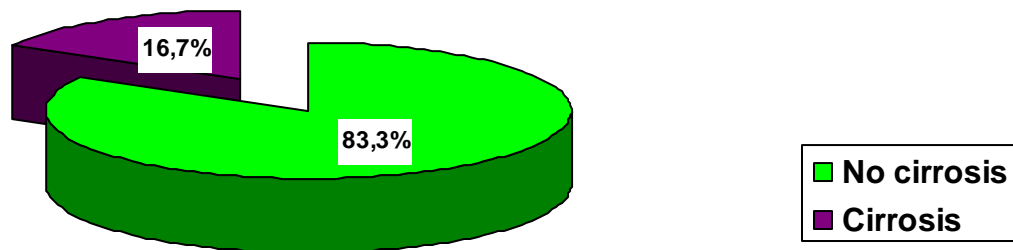


Figura 14. Distribución de la población estudiada según tengan o no cirrosis.

HEPATOCARCINOMA.

De los 377 sujetos incluidos 11 presentaban hepatocarcinoma asociado frente a 366 que no. (Tabla 24 y figura 15).

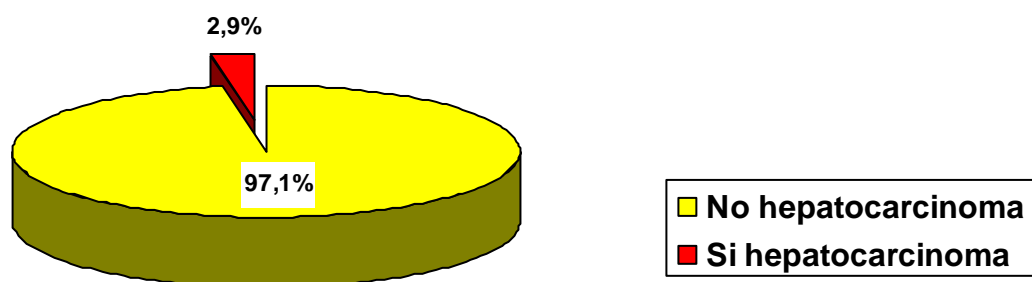


Figura 15. Distribución de la población estudiada según tengan o no hepatocarcinoma.

HEPATOCARCINOMA		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO HEPATOCARCINOMA	366	97,1	97,1	97,1
	SI HEPATOCARCINOMA	11	2,9	2,9	100,0
Total		377	100,0	100,0	

Tabla 24. Descriptivo de variable cualitativa hepatocarcinoma.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO VARIABLES INDEPENDIENTES.

CARGA VIRAL (RNA PCR UI/ml).

El valor medio de la carga viral ha sido 4149229 ± 5871049 UI/ml, con valores comprendidos entre 15 y 69000000 UI/ml. (Tabla 25 y figura 16).

CARGA VIRAL	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		4149229
Mediana		2010000
Moda		15
Desv. típ.		5871049
Varianza		34469219300895,66
Mínimo		15
Máximo		69000000
Percentiles	25	324949,66
	50	2010000
	75	6260076

Tabla 25. Descriptivo de variable cuantitativa carga viral (RNA PCR UI/ml).

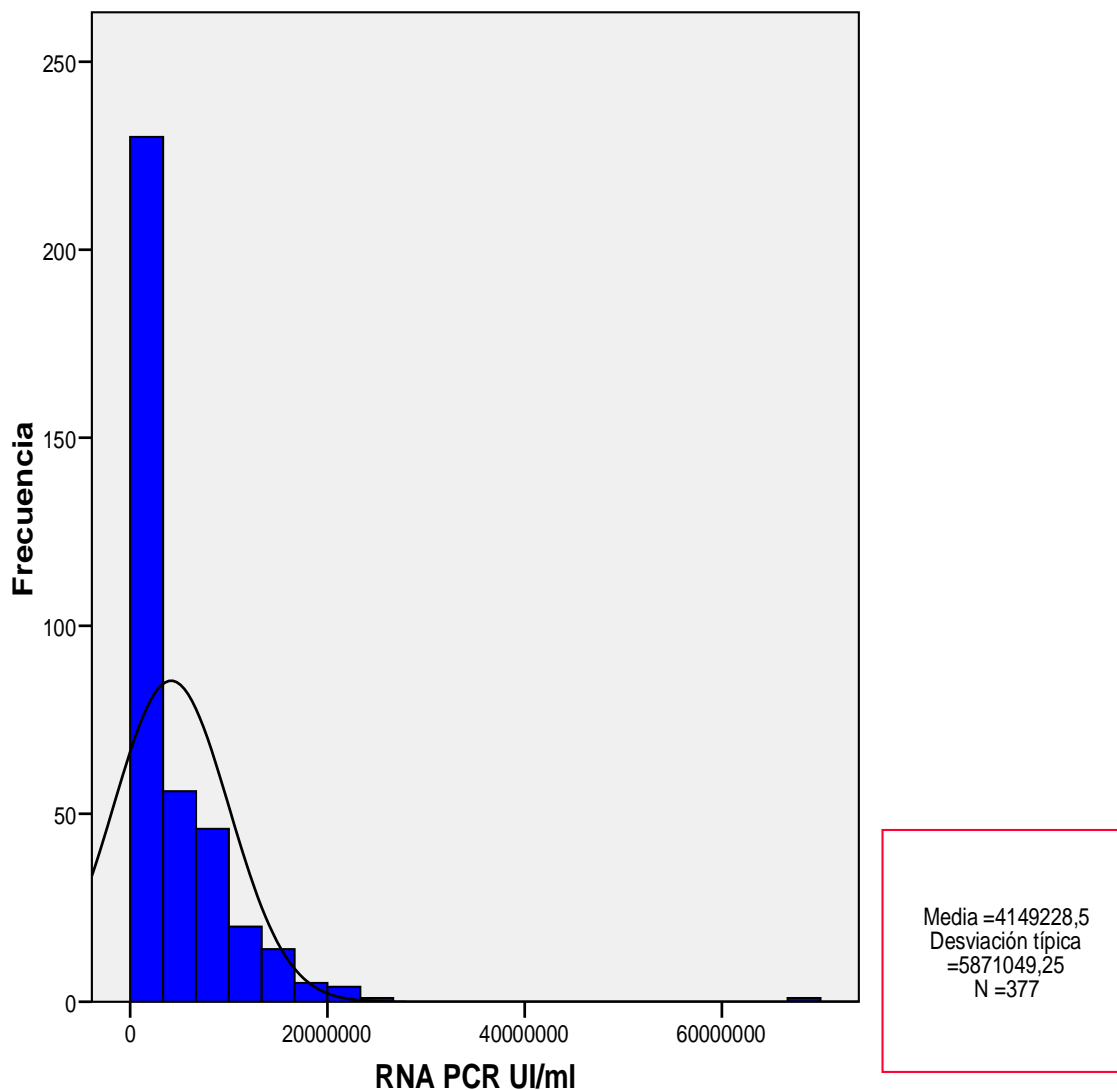


Figura 16. Descriptivo de variable cuantitativa carga viral (RNA PCR UI/ml).

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 1 (< O > 500,000 COPIAS).

En la primera categorización que hemos hecho de la carga viral, donde se considera que hay carga viral alta, cuando los valores son superiores a 500.000, para valores menores será una carga viral baja. Así, el 30,5 % de los pacientes presentaba una carga viral baja frente a los 69,5 % pacientes que presentaba una carga viral elevada. (Tabla 26 y figura 17).

CARGA VIRAL1	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
Carga viral baja	115	30,5	30,5	30,5
Carga viral alta	262	69,5	69,5	100,0
Total	377	100,0	100,0	

Tabla 26. Descriptivo variable carga viral categorizada 1.

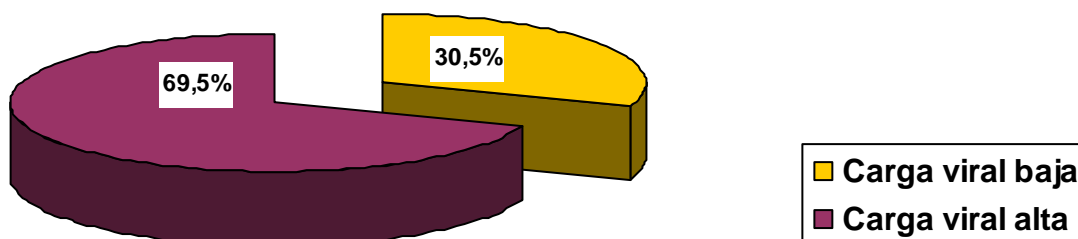


Figura 17. Descriptivo variable carga viral categorizada 1.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 2 (< O > 300,000 COPIAS).

En este caso la categorización que hemos hecho de la carga viral, se basa en considerar que hay carga viral alta, cuando los valores son superiores a 300.000, para valores menores será una carga viral baja. Así, el 23,6 % de pacientes presentaba una carga viral baja frente al 76,4 % de pacientes que presentaba una carga viral elevada. (Tabla 27 y figura 18).

CARGA VIRAL2	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
Carga viral baja	89	23,6	23,6	23,6
Carga viral alta	288	76,4	76,4	100,0
Total	377	100,0	100,0	

Tabla 27. Descriptivo variable carga viral categorizada 2.

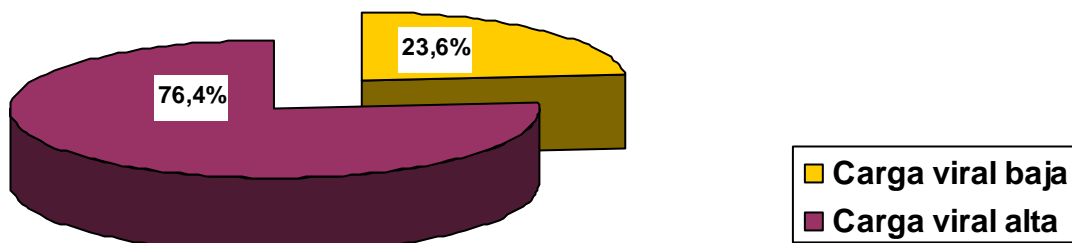


Figura 18. Descriptivo variable carga viral categorizada 2.

GENOTIPO.

De acuerdo a la distribución por genotipos, el 52,3 % presentaba genotipo 1, el 1,3 % genotipo 2, 12,2 % genotipo 3, el 8,8 % genotipo 4. Los valores perdidos fueron 96 sujetos (25,5 %), en los que se desconocía el genotipo. (Tabla 28 y figura 19).

GENOTIPO	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
Genotipo 1	197	52,3	70,1	70,1
Genotipo 2	5	1,3	1,8	71,9
Genotipo 3	46	12,2	16,4	88,3
Genotipo 4	33	8,8	11,7	100,0
Total	281	74,5	100,0	
Perdido				
Sistema	96	25,5		
Total	377	100,0		

Tabla 28. Descriptivo de variable cualitativa genotipo.

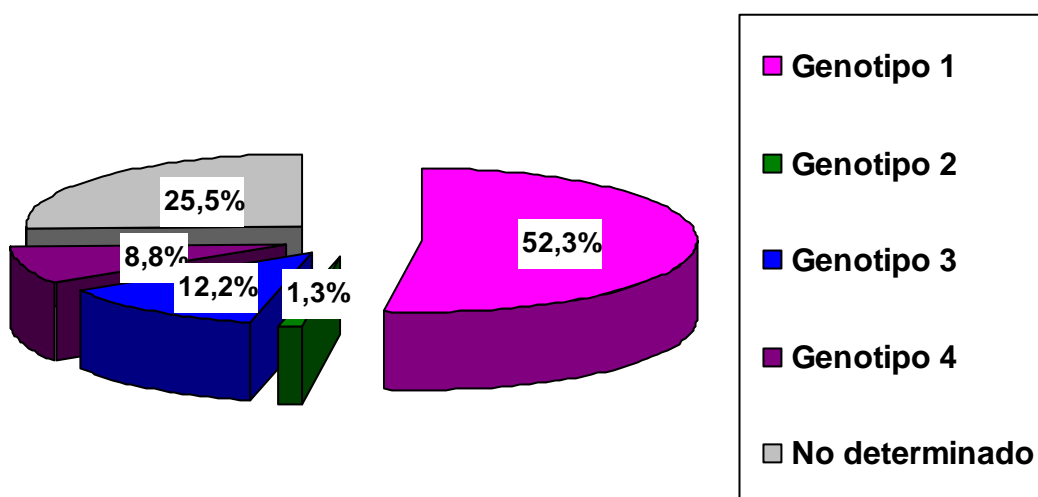


Figura 19. Distribución de genotipos en población estudiada.

EDAD.

La edad media de los sujetos incluidos (N = 377) ha sido de $50,52 \pm 13,612$ años, con edades comprendidas entre los 20 y 88 años. (Tabla 29 y figura 20).

EDAD	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		50,52
Mediana		48,00
Moda		41
Desv. típ.		13,612
Varianza		185,293
Mínimo		20,00
Máximo		88,00
Percentiles	25	41,00
	50	48,00
	75	57,50

Tabla 29. Descriptivo de variable cuantitativa edad.

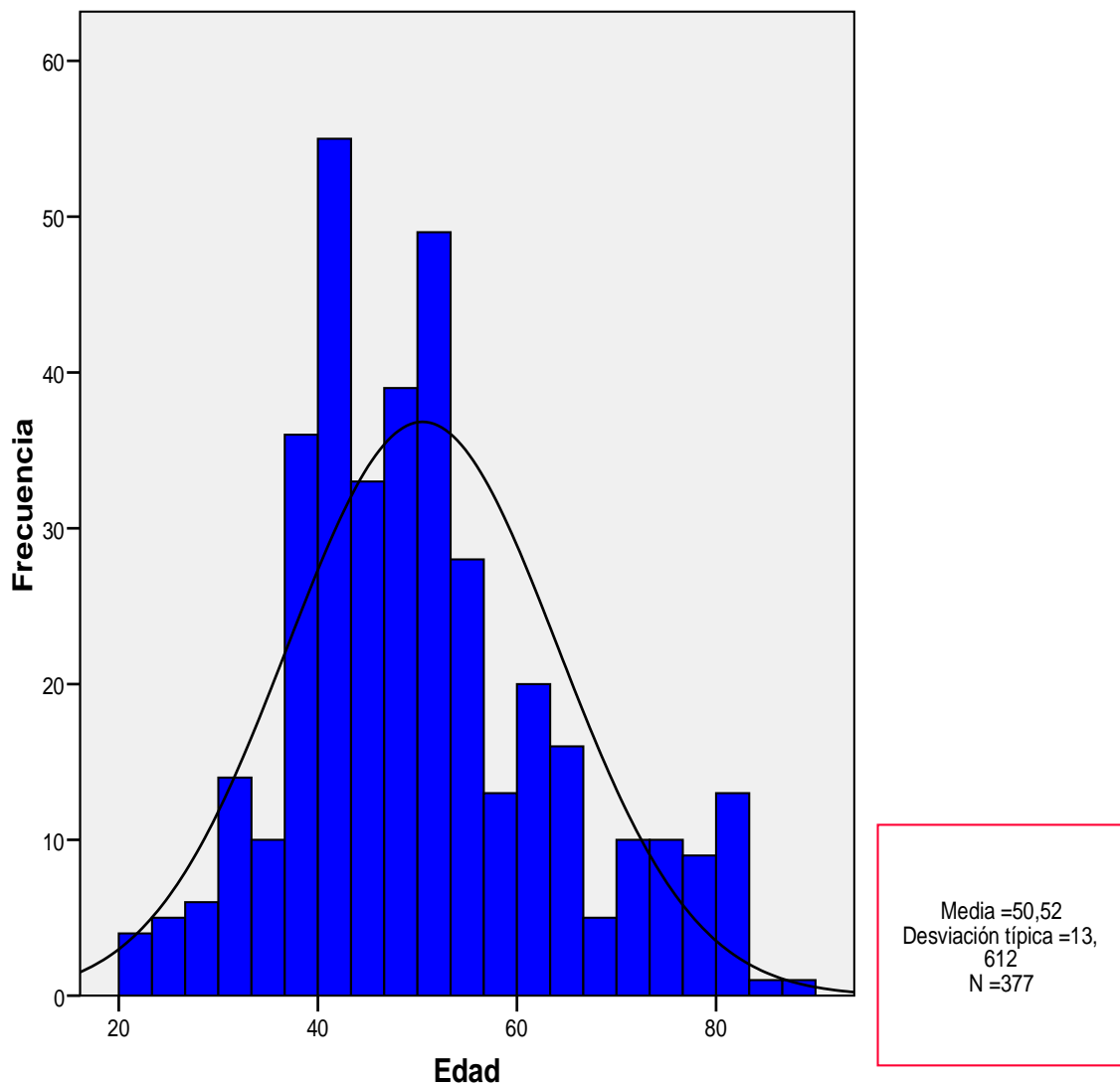


Figura 20. Descriptivo de variable cuantitativa edad.

EDAD CATEGORIZADA.

Hemos procedido a categorizar la variable cuantitativa edad en cuatro categorías o grupos de edad como se muestra en la **tabla 30** y **figura 21**.

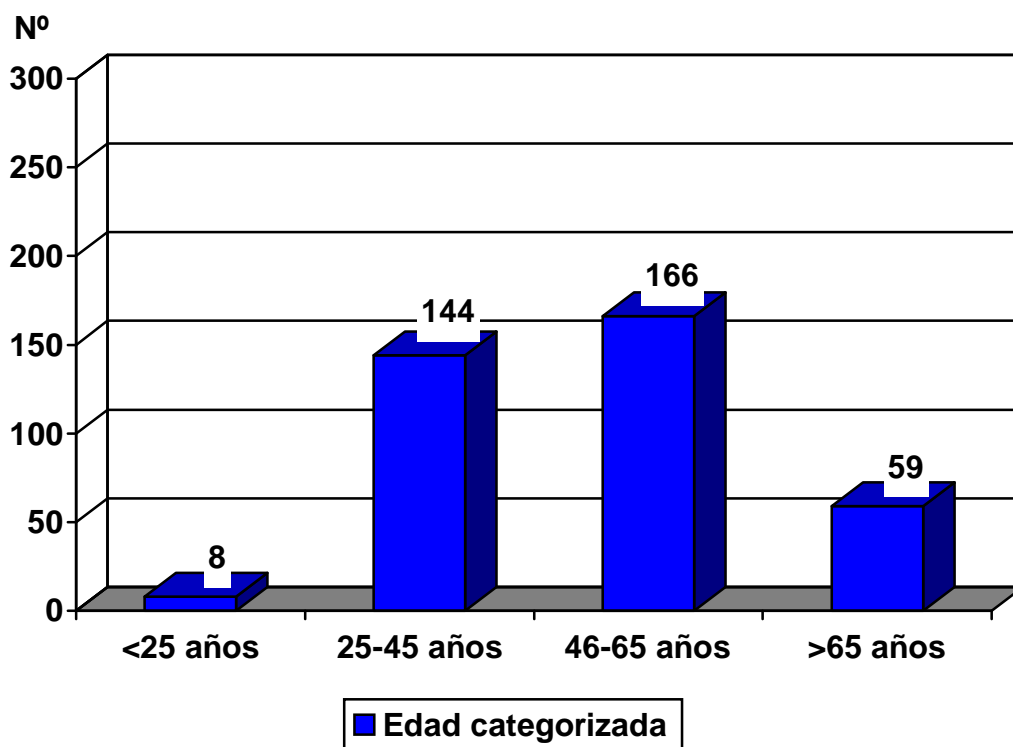


Figura 21. Descriptivo de variable cualitativa edad categorizada.

EDAD CATEGORIZADA	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<25 años	8	2,1	2,1	2,1
25-45 años	144	38,2	38,2	40,3
46-65 años	166	44,0	44,0	84,4
>65 años	59	15,6	15,6	100,0
Total	377	100,0	100,0	

Tabla 30. Descriptivo de variable cuantitativa edad categorizada.

SEXO.

De los 377 sujetos incluidos, el 66 % eran varones y el 34 % mujeres. (Tabla 31 y figura 22).

SEXO	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
VARON	249	66,0	66,0	66,0
MUJER	128	34,0	34,0	100,0
Total	377	100,0	100,0	

Tabla 31. Descriptivo de variable cualitativa sexo.

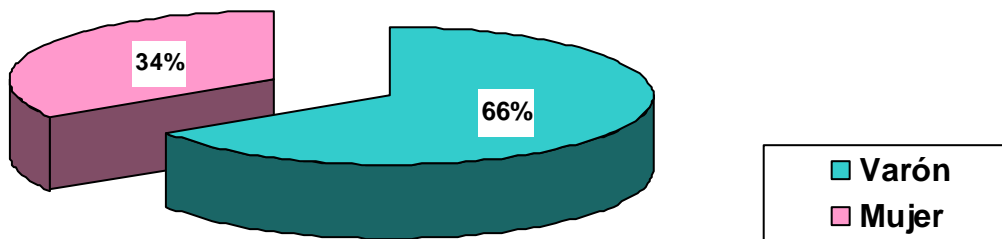


Figura 22. Distribución por sexo en población estudiada.

EDAD CATEGORIZADA Y SEXO.

De acuerdo con la distribución del sexo en cada grupo de edad, el 79,2 % de los pacientes entre 25 y 45 años eran varones, así como el 62,7 % de los que tienen entre 45 y 65 años. (Tabla 32 y figura 23).

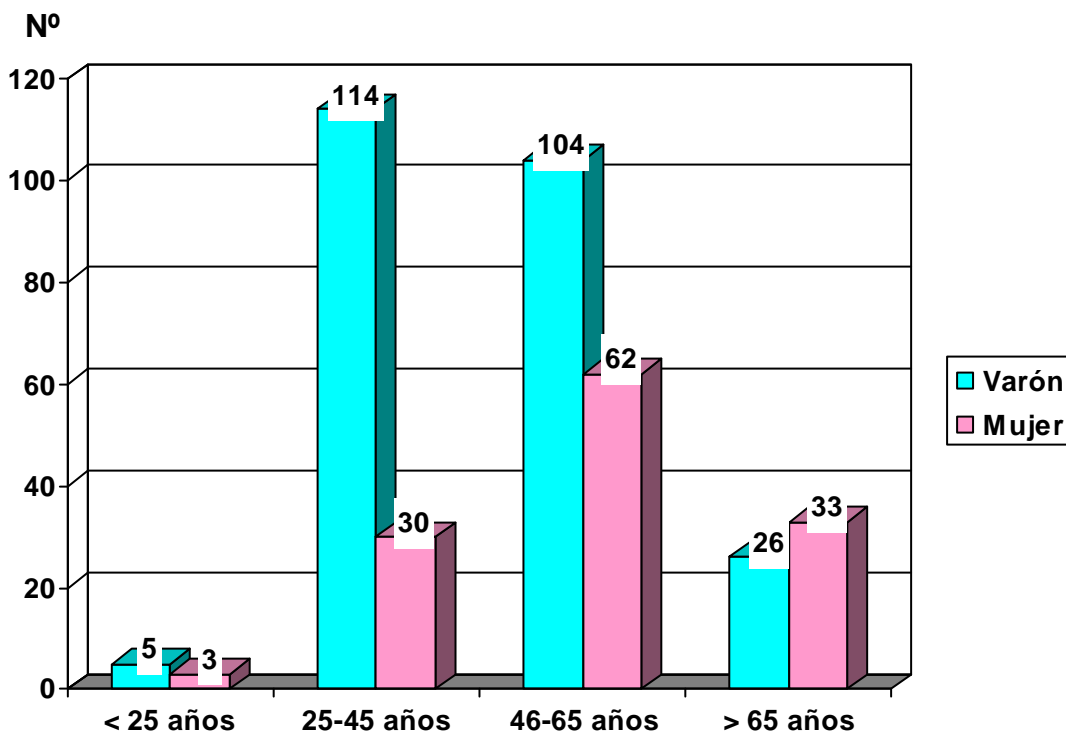


Figura 23. Diferencias de frecuencias de cada grupo de edad según sexo.

VARIABLES CUALITATIVAS	SEXO		P (SIGNIFICACIÓN)
	VARÓN	MUJER	
EDAD CATEGORIZADA, Nº (%)			
< 25 años	5 (1,3%)	3 (0,8%)	
25-45 años	114 (30,2%)	30 (8,0%)	0,0001
45-65 años	104 (27,6%)	62 (16,4%)	
> 65 años	26 (6,9%)	33 (8,8%)	

Tabla 32. Diferencias de frecuencias de cada grupo de edad según sexo.

GLUCOSA.

El valor medio de glucosa (mg/dl) ha sido de $104,53 \pm 32,001$ mg/dl, con valores comprendidos entre 59 y 348 mg/dl. (Tabla 33 y figura 24).

GLUCOSA	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		104,53
Mediana		97,00
Moda		100
Desv. típ.		32,001
Varianza		1024,074
Mínimo		59
Máximo		348
Percentiles	25	88,00
	50	97,00
	75	109,00

Tabla 33. Descriptivo de variable cuantitativa glucosa.

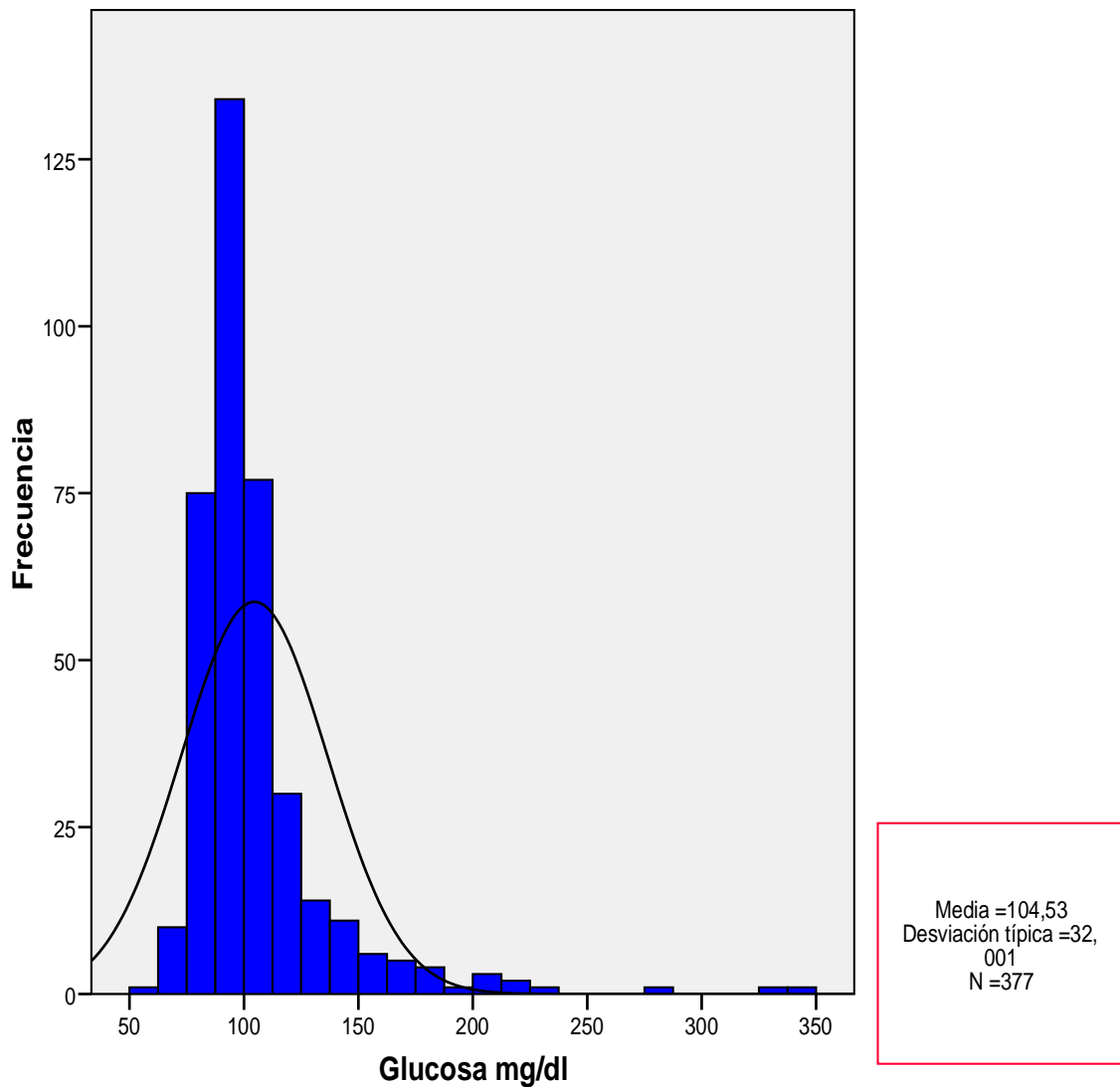


Figura 24. Descriptivo de variable cuantitativa Glucosa.

UREA.

El valor medio de urea ha sido de $36,56 \pm 25,698$ mg/ dl, con valores comprendidos entre 13 y 258 mg/dl. (Tabla 34 y figura 25).

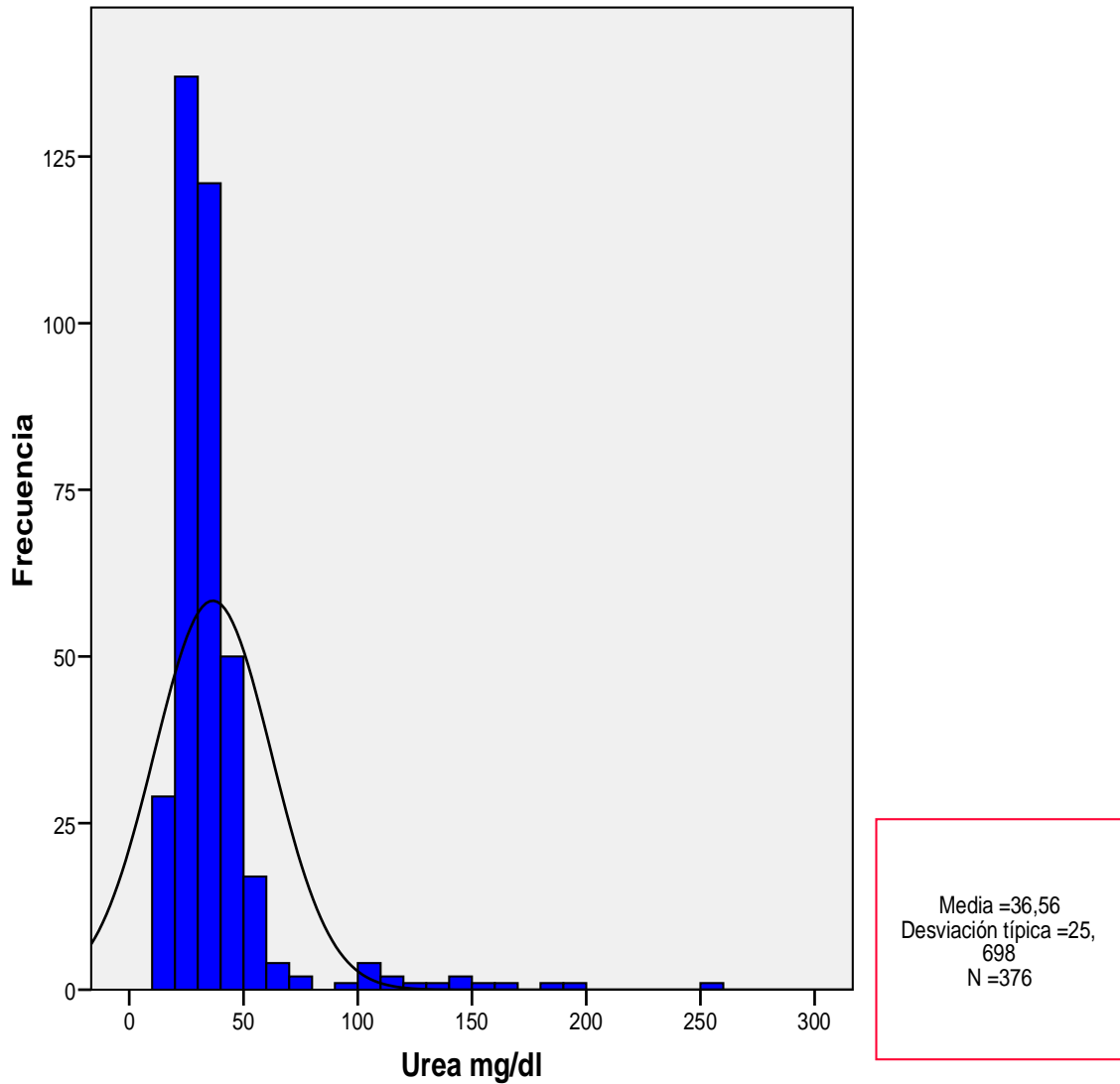


Figura 25. Descriptivo de variable cuantitativa Urea.

UREA	Válidos	376
	Perdidos	1
Media		36,56
Mediana		31,00
Moda		28
Desv. típ.		25,698
Varianza		660,365
Mínimo		13
Máximo		258
Percentiles	25	25,00
	50	31,00
	75	38,75

Tabla 34. Descriptivo de variable cuantitativa urea.

CREATININA.

El valor medio de creatinina ha sido $1,25 \pm 1,506$ mg/dl, con valores comprendidos entre 0,60 y 13 mg/l. (Tabla 35 y figura 26).

CREATININA	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		1,25
Mediana		0,90
Moda		0,90
Desv. típ.		1,506
Varianza		2,267
Mínimo		1
Máximo		13
Percentiles	25	0,80
	50	0,90
	75	1,10

Tabla 35. Descriptivo de variable cuantitativa creatinina.

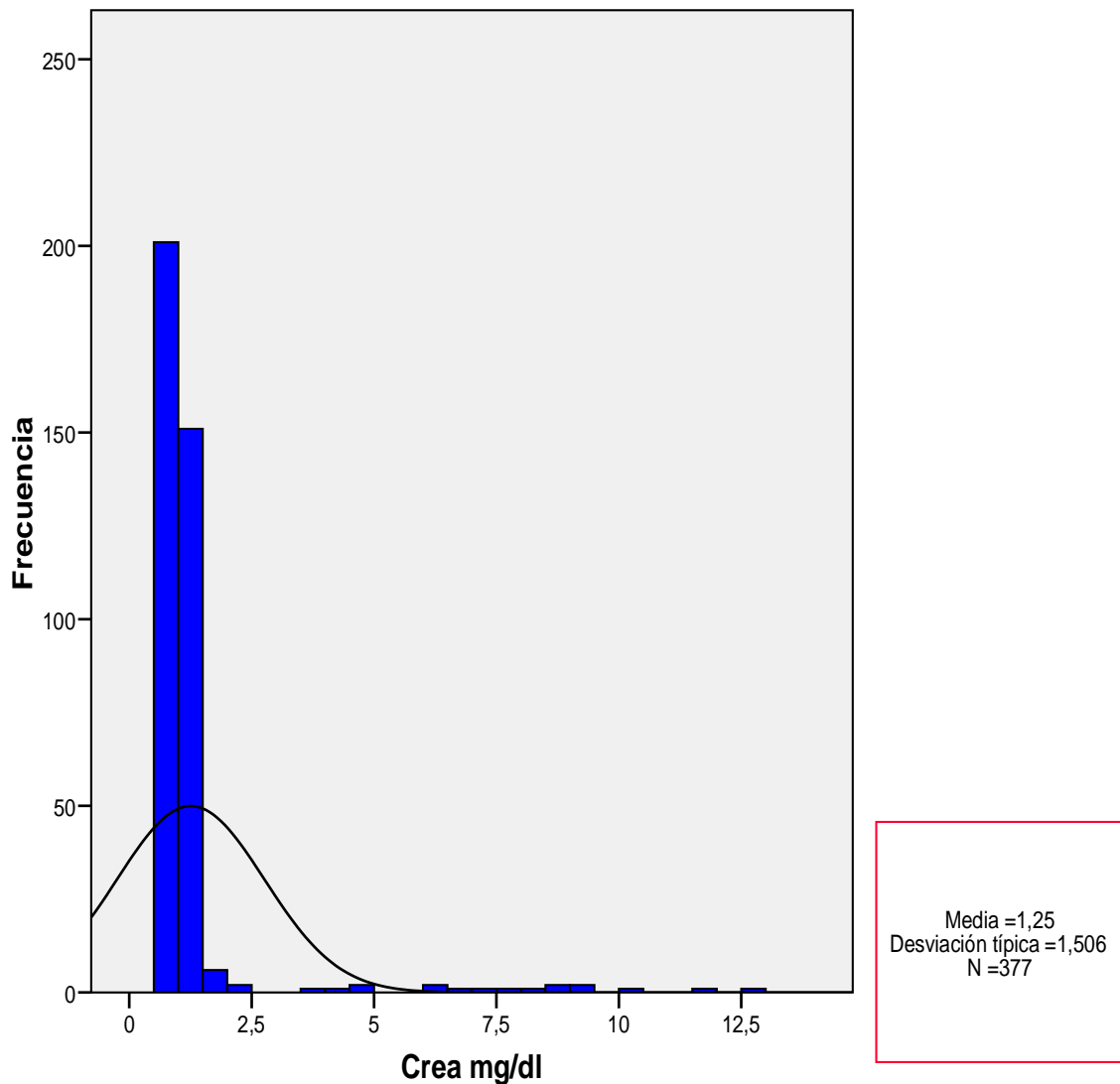


Figura 26. Descriptivo de variable cuantitativa creatinina.

ÁCIDO ÚRICO.

El valor medio de ácido úrico ha sido $5,20 \pm 1,456$ mg/dl, con valores comprendidos entre 0,60 y 11,70 mg/dl. (Tabla 36 y figura 27).

ÁCIDO ÚRICO	Válidos	372
	Perdidos	5
Media		5,20
Mediana		5,10
Moda		5
Desv. típ.		1,456
Varianza		2,121
Mínimo		1
Máximo		12
Percentiles	25	4,20
	50	5,10
	75	6,10

Tabla 36. Descriptivo de variable cuantitativa ácido úrico.

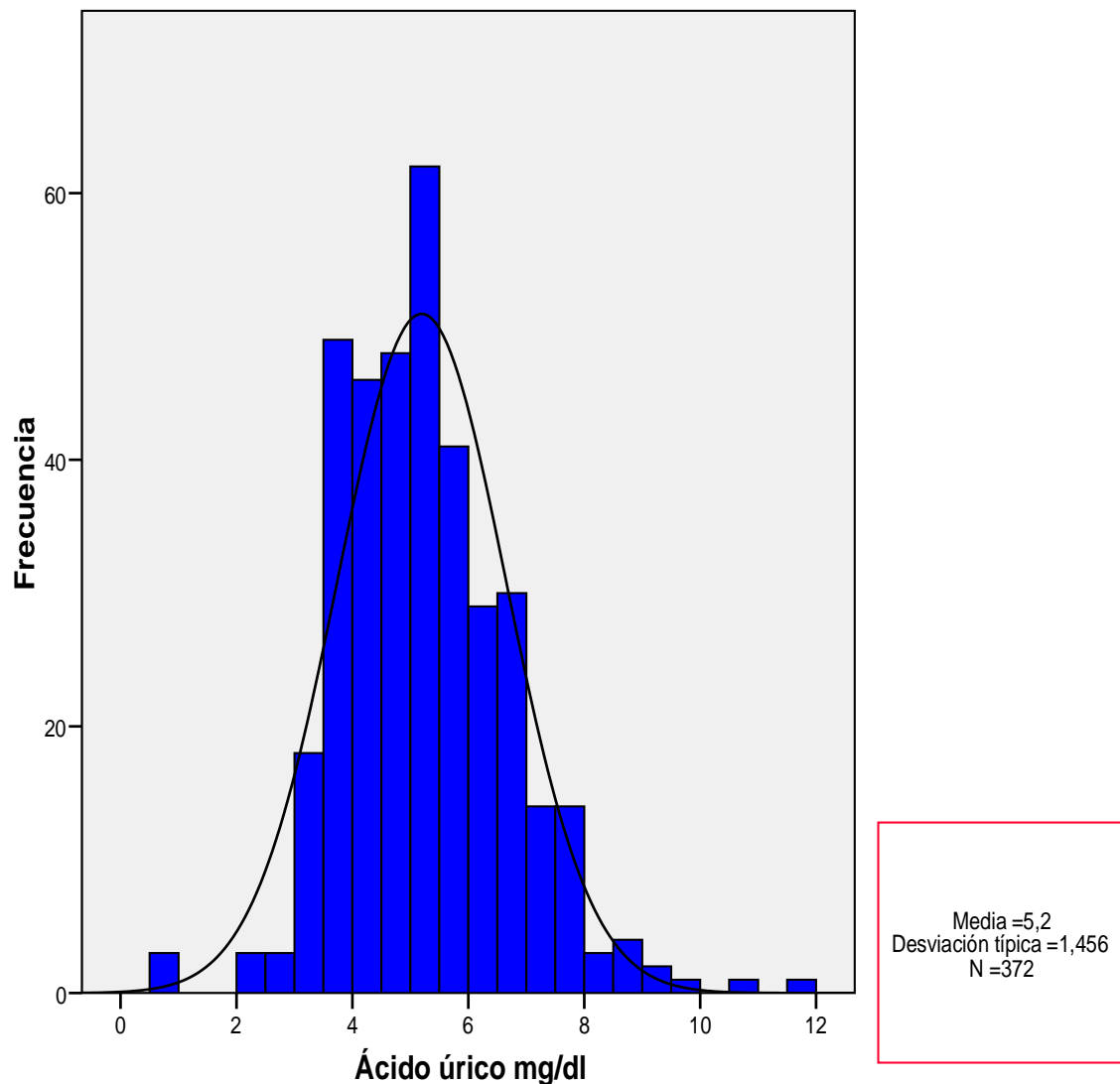


Figura 27. Descriptivo de variable cuantitativa ácido úrico.

COLESTEROL.

El valor medio de colesterol es de $173,70 \pm 39,857$ mg/dl, con valores comprendidos entre 70 y 300 mg/dl. (Tabla 37 y figura 28).

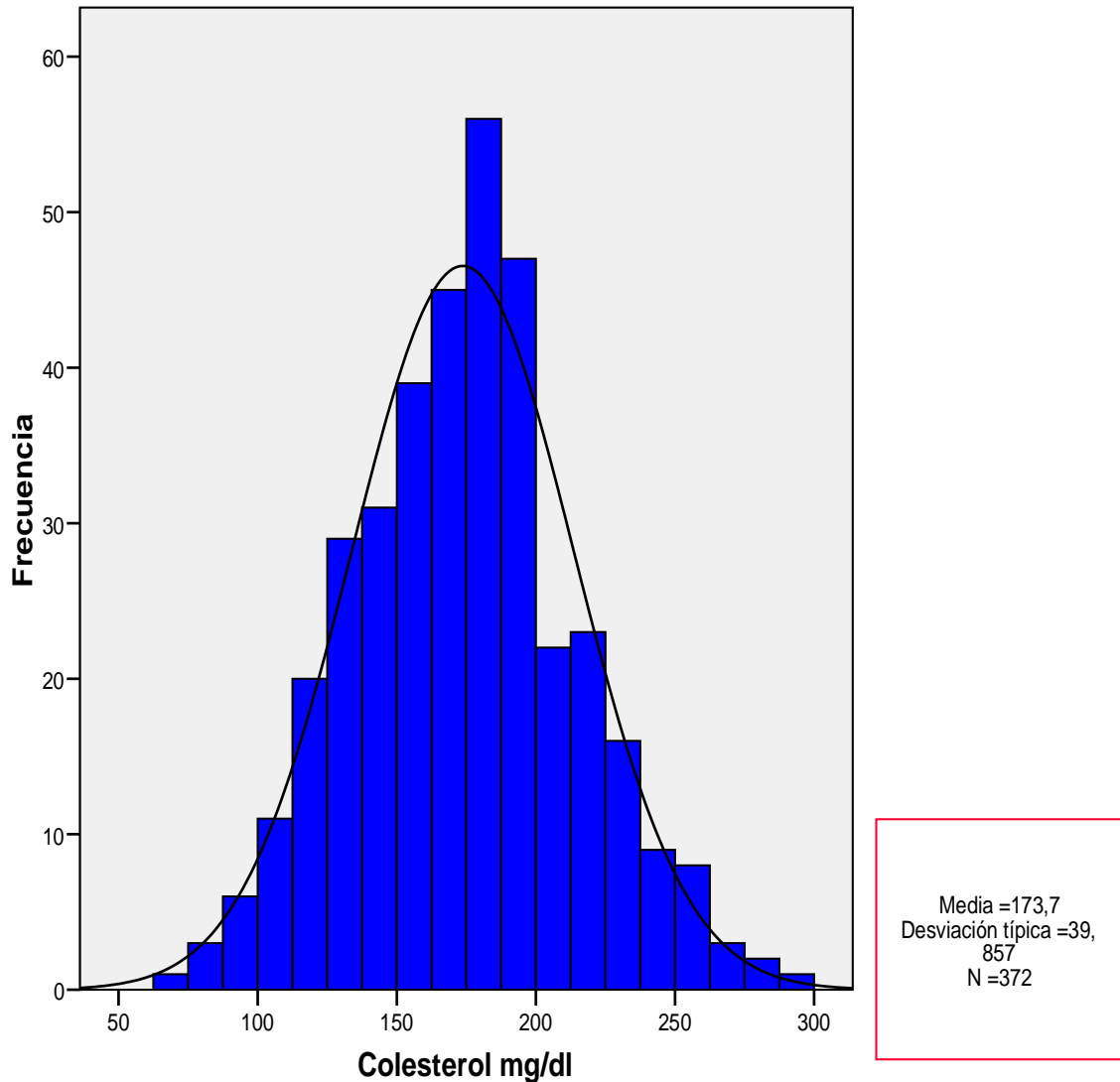


Figura 28. Descriptivo de variable cuantitativa colesterol.

COLESTEROL	Válidos	372
	Perdidos	5
Media		173,70
Mediana		175,00
Moda		175
Desv. típ.		39,857
Varianza		1588,598
Mínimo		70
Máximo		300
Percentiles	25	148,00
	50	175,00
	75	196,00

Tabla 37. Descriptivo de variable cuantitativa colesterol.

TRICLICERIDOS.

El valor medio de los triglicéridos ha sido $115,23 \pm 84,307$ mg/dl, con valores comprendidos entre 33 y 1015 mg/dl. (Tabla 38 y figura 29).

TRIGLICERIDOS	Válidos	372
	Perdidos	5
Media		115,23
Mediana		96,50
Moda		73
Desv. típ.		84,307
Varianza		7107,752
Mínimo		33
Máximo		1015
Percentiles	25	73,00
	50	96,50
	75	132,00

Tabla 38. Descriptivo de variable cuantitativa triglicéridos.

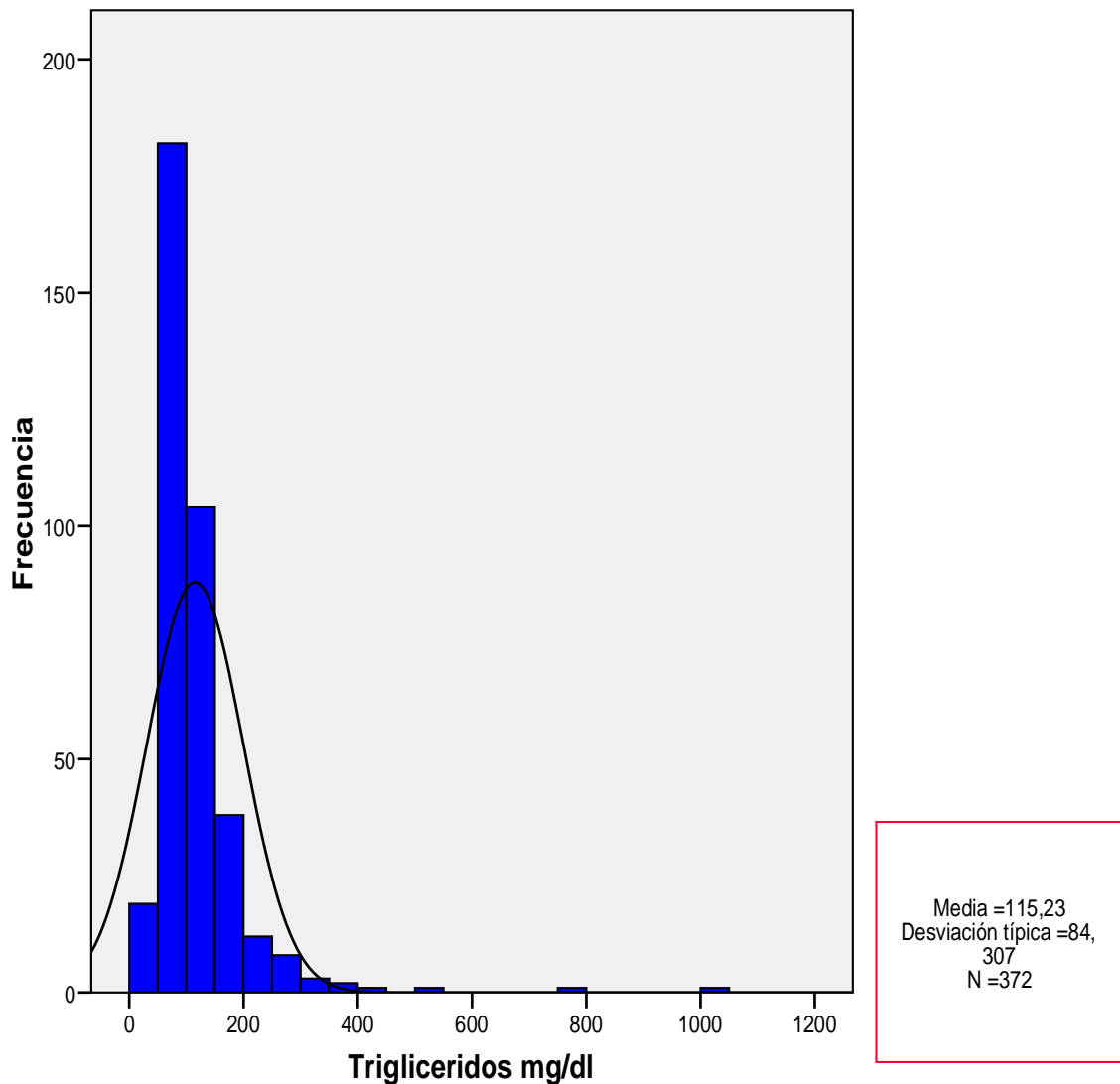


Figura 29. Descriptivo de variable cuantitativa triglicéridos.

BILIRRUBINA TOTAL.

El valor medio de bilirrubina total es de $1,05 \pm 0,982$ mg/dl, con valores comprendidos entre 0,24 y 8,30 mg/dl. (Tabla 39 y figura 30).

BILIRRUBINA	Válidos	372
	Perdidos	5
Media		1,05
Mediana		0,80
Moda		1
Desv. típ.		0,982
Varianza		0,963
Mínimo		0
Máximo		8
Percentiles	25	0,59
	50	0,80
	75	1,11

Tabla 39. Descriptivo de variable cuantitativa bilirrubina.

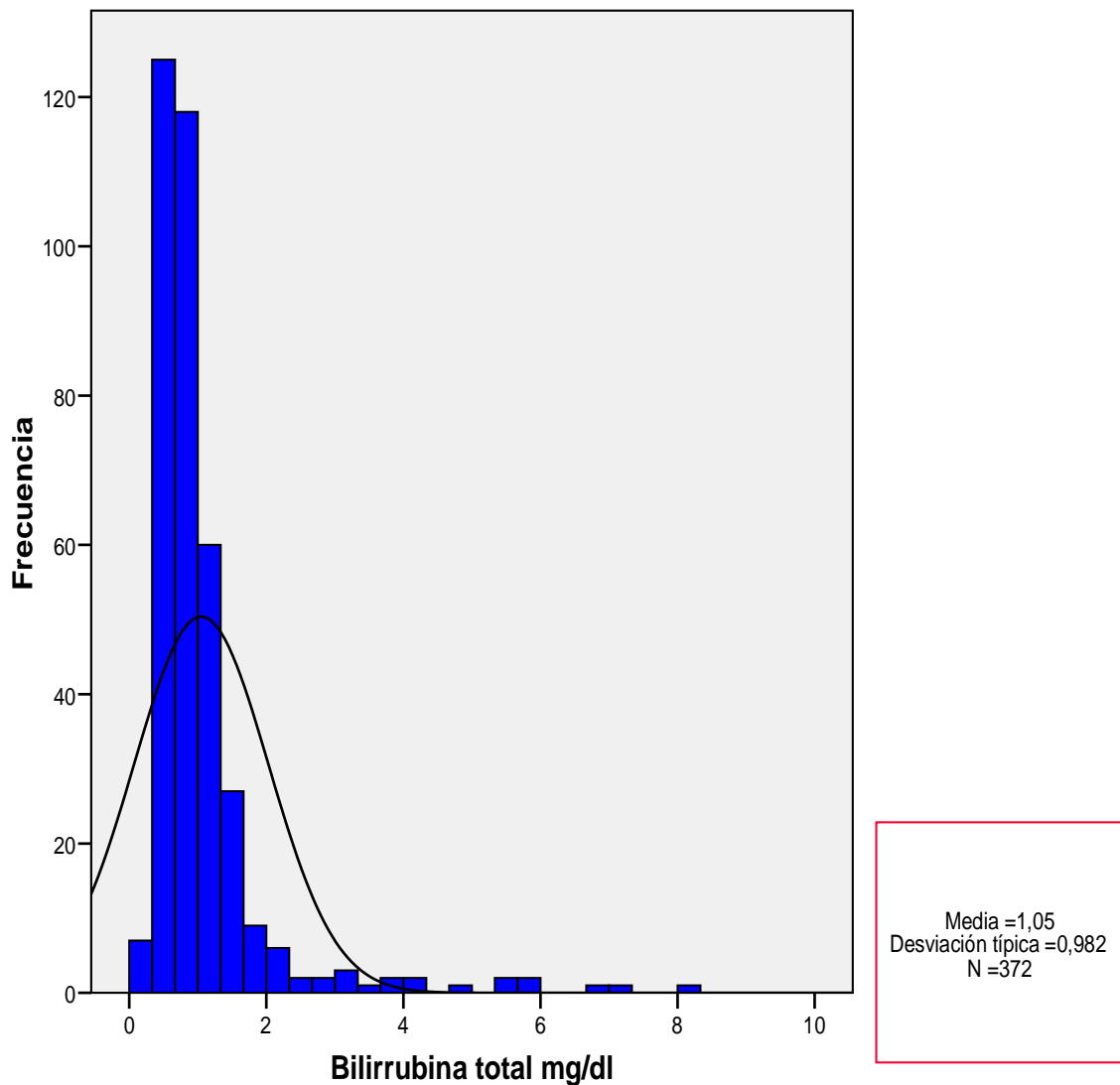


Figura 30. Descriptivo de variable cuantitativa bilirrubina.

GLUTÁMICO-OXALACÉTICO TRANSAMINASA SÉRICA.

El valor medio de GOT ha sido de $70,37 \pm 59,798$ U/L, con valores comprendidos entre 11 y 419 U/L. (Tabla 40 y figura 31).

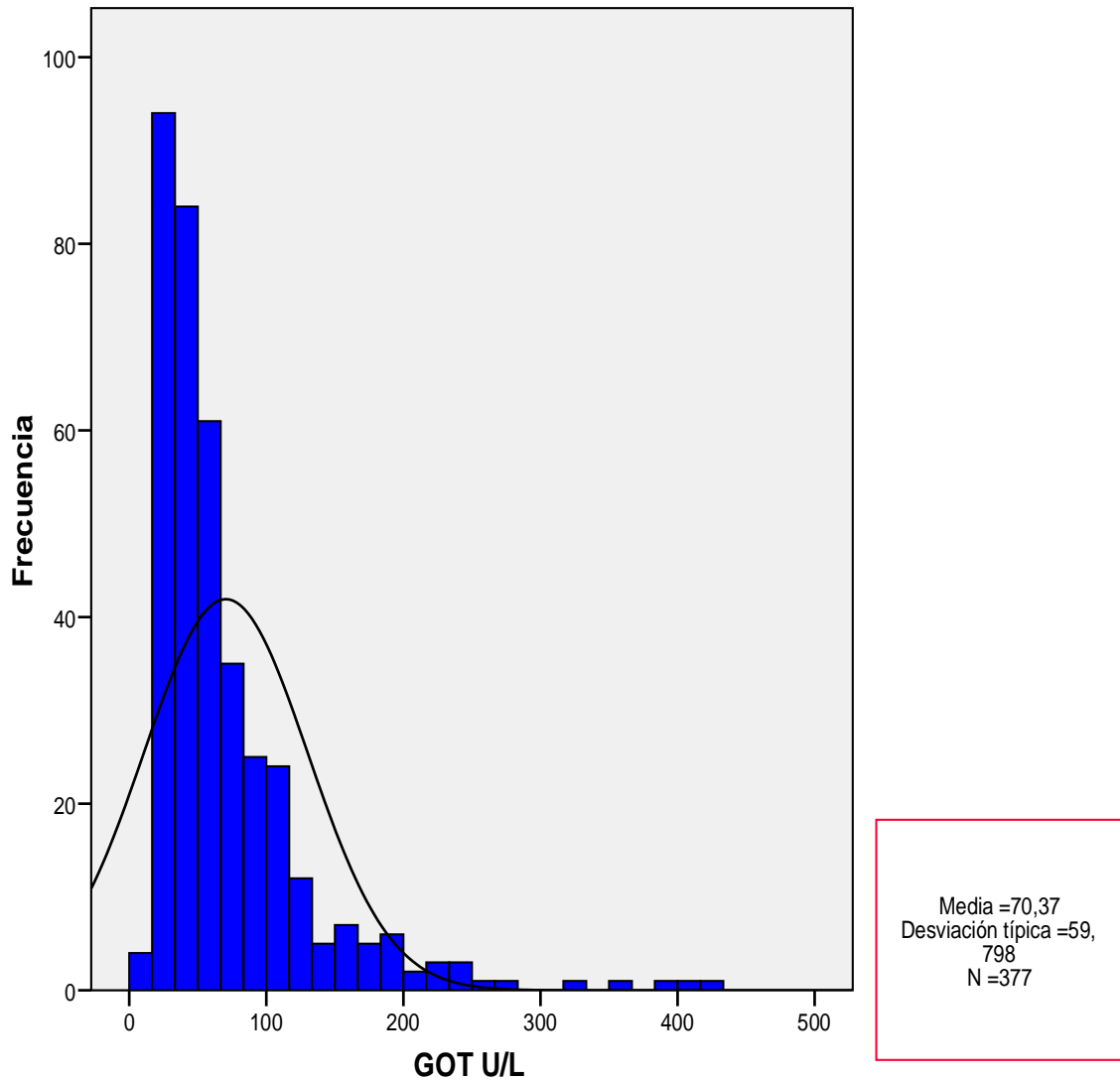


Figura 31. Descriptivo de variable cuantitativa GOT.

GOT	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		70,37
Mediana		50,00
Moda		33
Desv. típ.		59,798
Varianza		3575,830
Mínimo		11
Máximo		419
Percentiles	25	33,00
	50	50,00
	75	86,00

Tabla 40. Descriptivo de variable cuantitativa GOT.

PIRUVATO GLUTAMATO TRANSAMINASA SÉRICA.

El valor medio de GPT ha sido $87,45 \pm 75,731$ U/L, con valores comprendidos entre 10 y 597 U/L. (Tabla 41 y figura 32).

GPT	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		87,45
Mediana		66,00
Moda		23
Desv. típ.		75,731
Varianza		5735,205
Mínimo		10
Máximo		597
Percentiles	25	39,00
	50	66,00
	75	105,50

Tabla 41. Descriptivo de variable cuantitativa GPT.

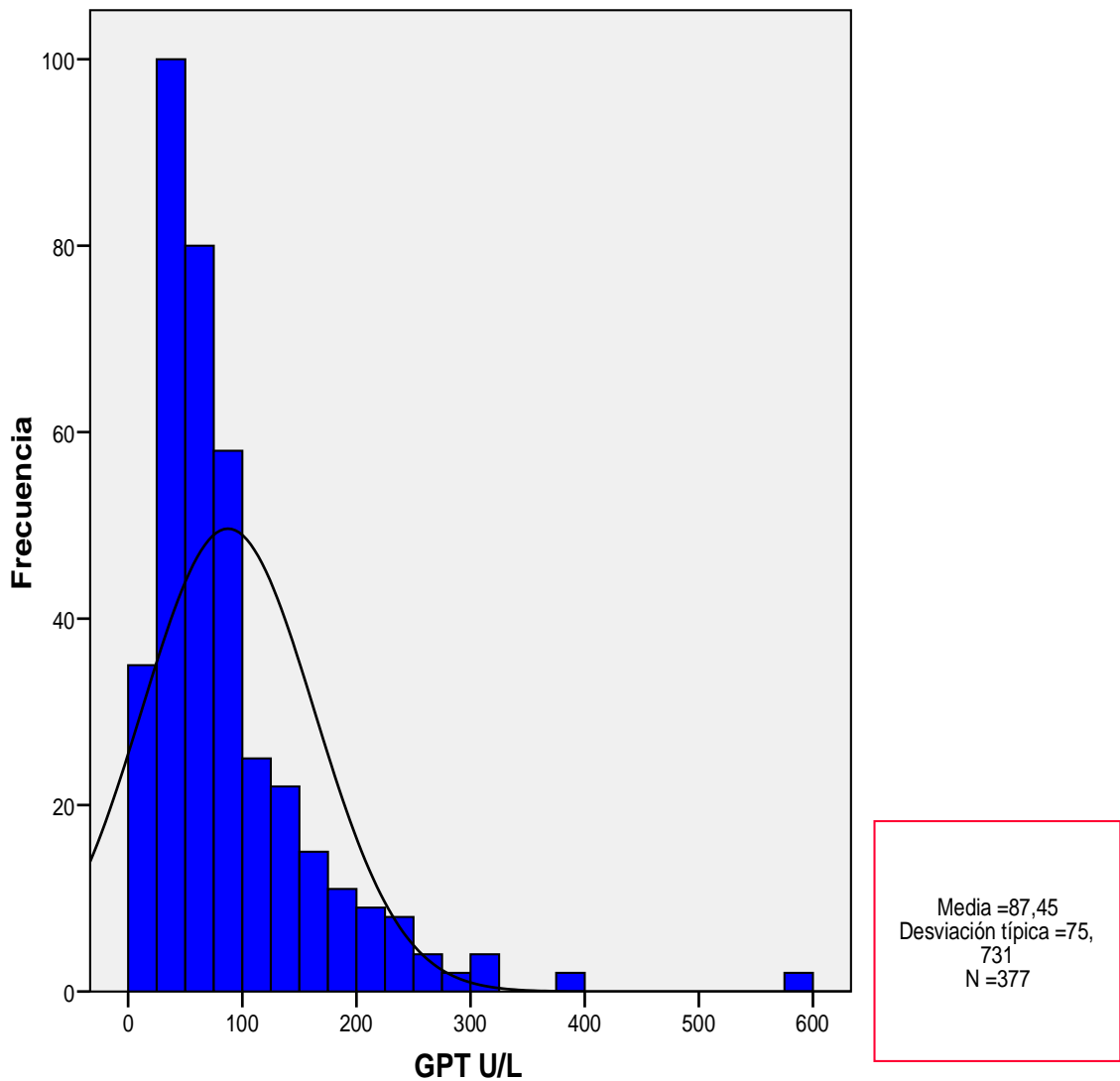


Figura 32. Descriptivo de variable cuantitativa GPT.

GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA.

El valor medio de GGT ha sido $104,13 \pm 117,933$ U/L, con valores comprendidos entre 8 y 831 U/L. (Tabla 42 y figura 33).

GGT	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		104,13
Mediana		61,00
Moda		29
Desv. típ.		117,933
Varianza		13908,143
Mínimo		8
Máximo		831
Percentiles	25	33,00
	50	61,00
	75	124,00

Tabla 42. Descriptivo de variable cuantitativa GGT.

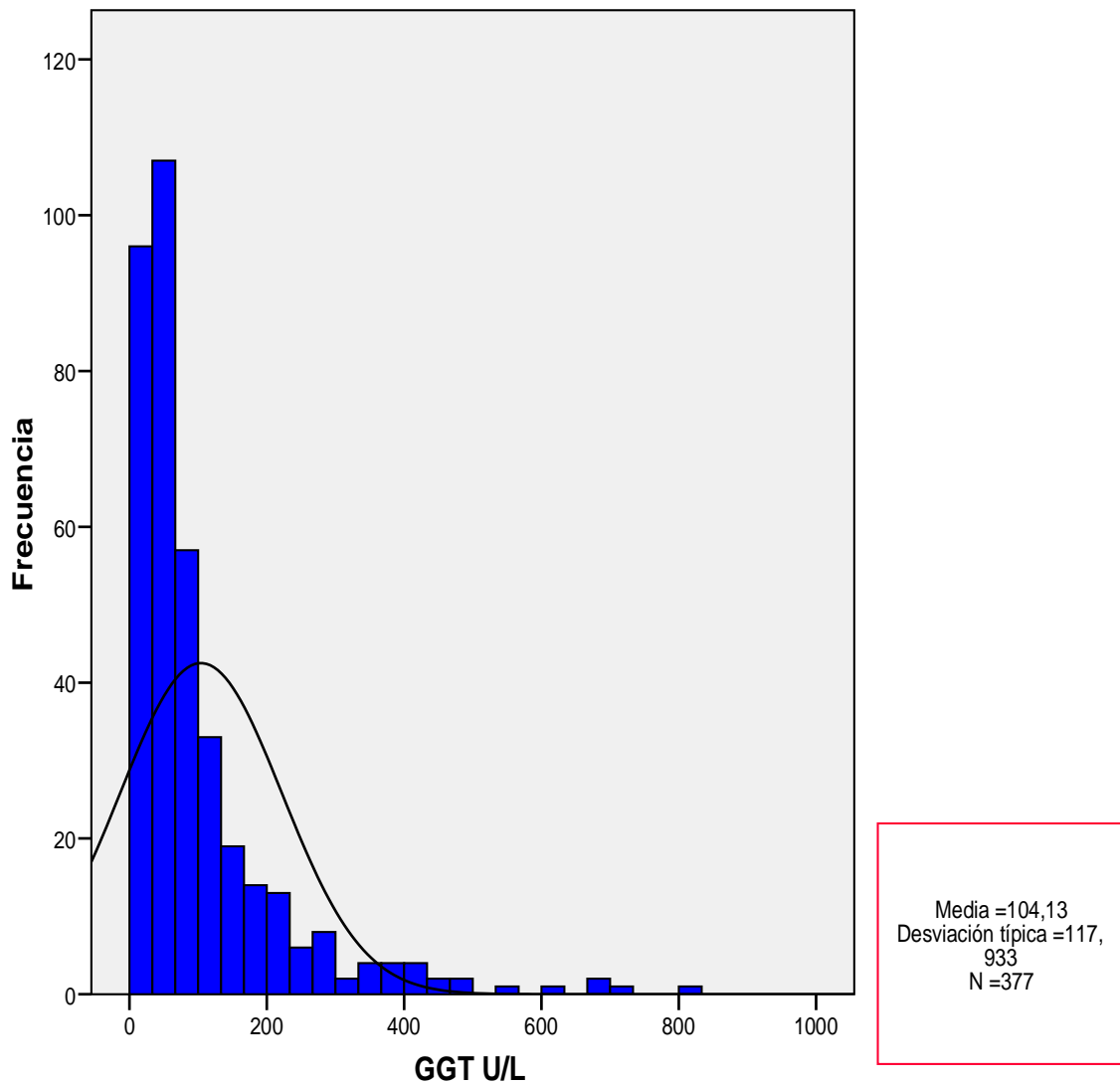


Figura 33. Descriptivo de variable cuantitativa GGT.

FOSFATASA ALCALINA.

El valor medio de fosfatasa alcalina ha sido $94,96 \pm 43,448$ U/L, con valores comprendidos entre 36 y 373 U/L. (Tabla 43 y figura 34).

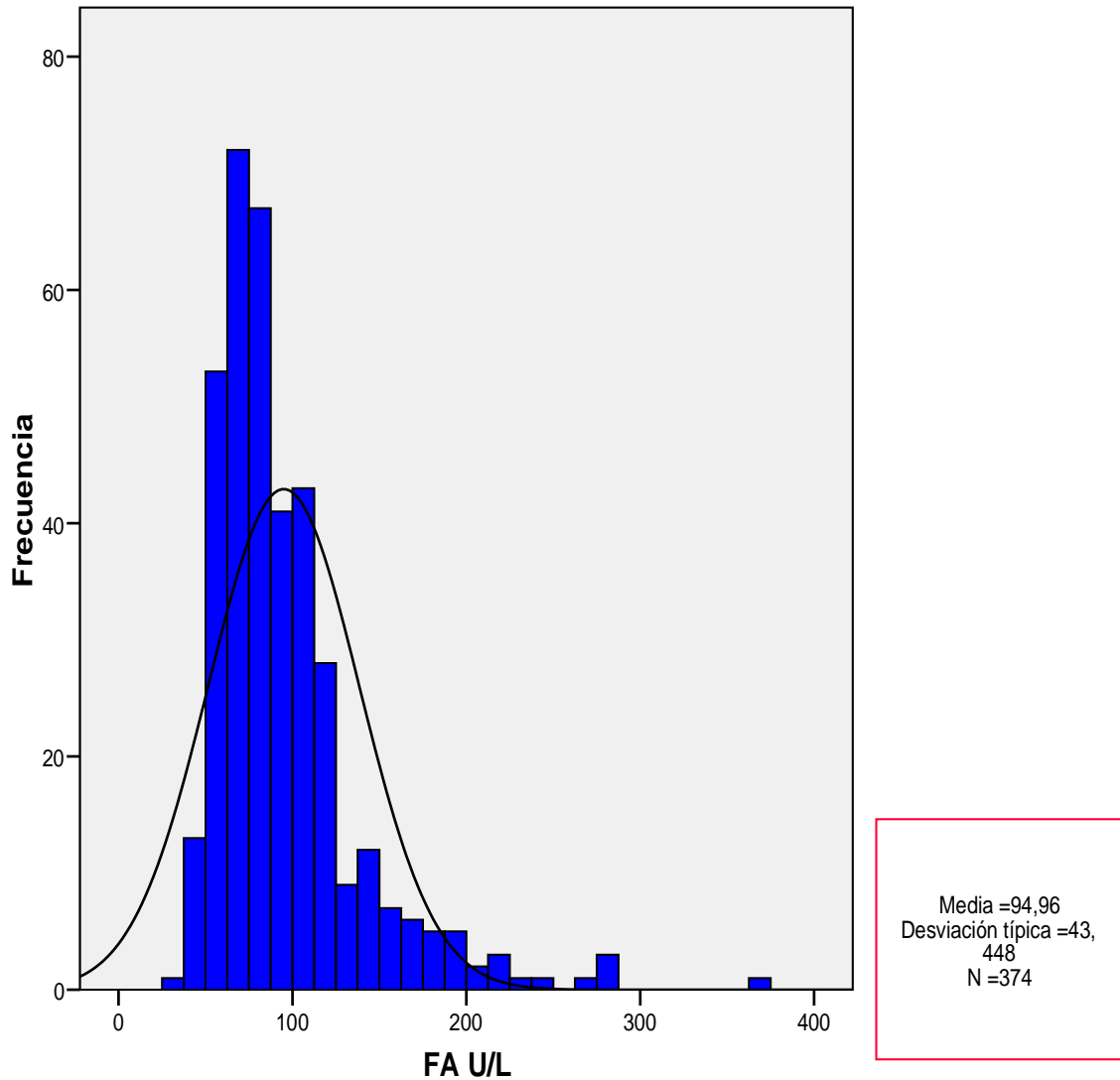


Figura 34. Descriptivo de variable cuantitativa fosfatasa alcalina.

FOSFATASA ALCALINA	Válidos	374
	Perdidos	3
Media		94,96
Mediana		83,00
Moda		65
Desv. típ.		43,448
Varianza		1887,768
Mínimo		36
Máximo		373
Percentiles	25	66,00
	50	83,00
	75	110,00

Tabla 43. Descriptivo de variable cuantitativa fosfatasa alcalina.

LACTICO DESHIDROGENASA.

El valor medio de LDH ha sido $404,98 \pm 98,575$ U/L, con valores comprendidos entre 105 y 894 U/L. (Tabla 44 y figura 35).

LDH	Válidos	364
	Perdidos	13
Media		404,98
Mediana		389,50
Moda		363
Desv. típ.		98,575
Varianza		9717,049
Mínimo		105
Máximo		894
Percentiles	25	339,25
	50	389,50
	75	447,00

Tabla 44. Descriptivo de variable cuantitativa LDH.

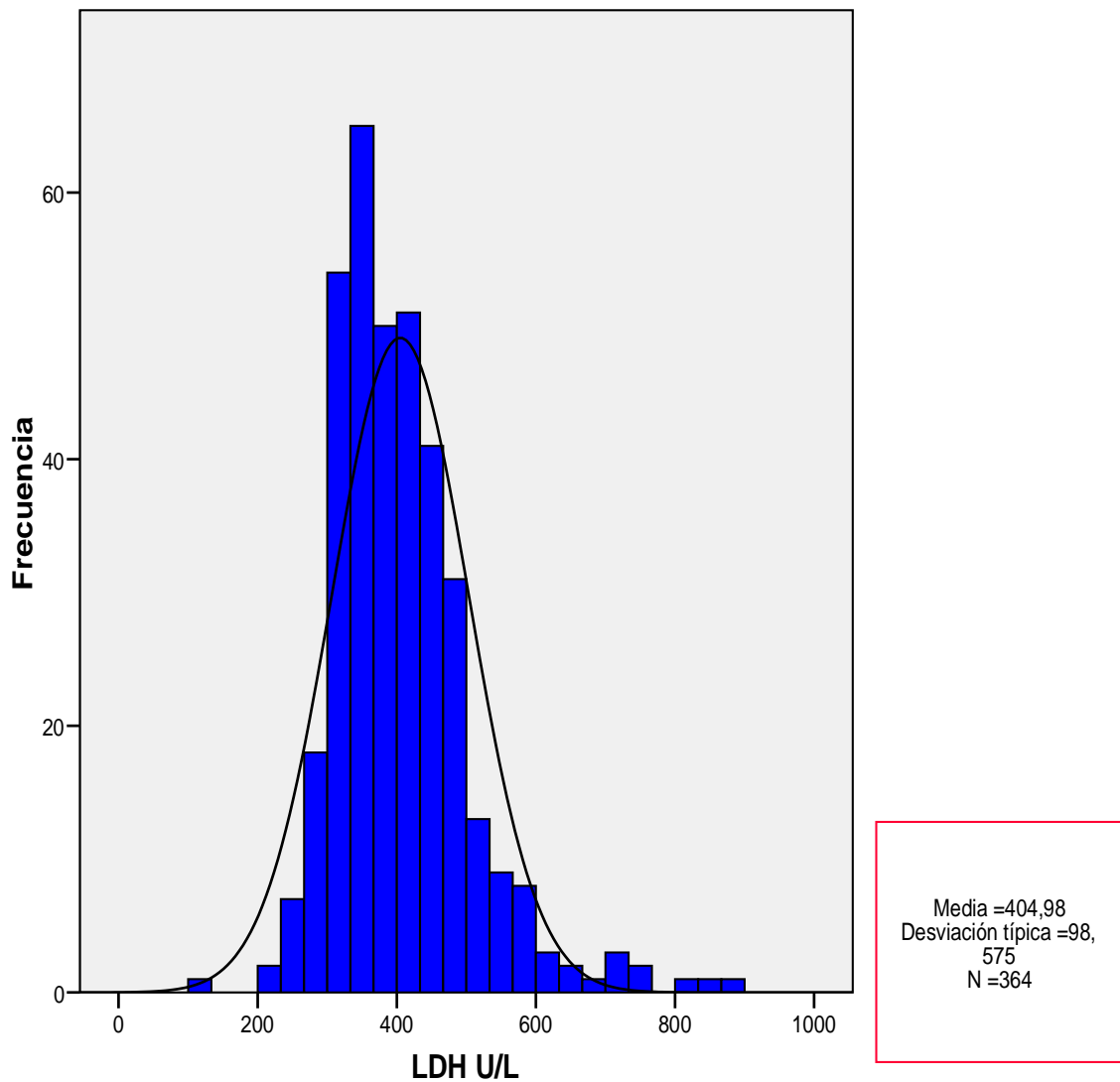


Figura 35. Descriptivo de variable cuantitativa LDH.

HIERRO.

El valor medio de hierro ha sido $117,98 \pm 58,998$ ug/dl, con valores comprendidos entre 9 y 371 ug/dl. (Tabla 45 y figura 36).

HIERRO	Válidos	369
	Perdidos	8
Media		117,98
Mediana		109,00
Moda		111
Desv. típ.		58,998
Varianza		3480,706
Mínimo		9
Máximo		371
Percentiles	25	78,00
	50	109,00
	75	145,50

Tabla 45. Descriptivo de variable cuantitativa hierro.

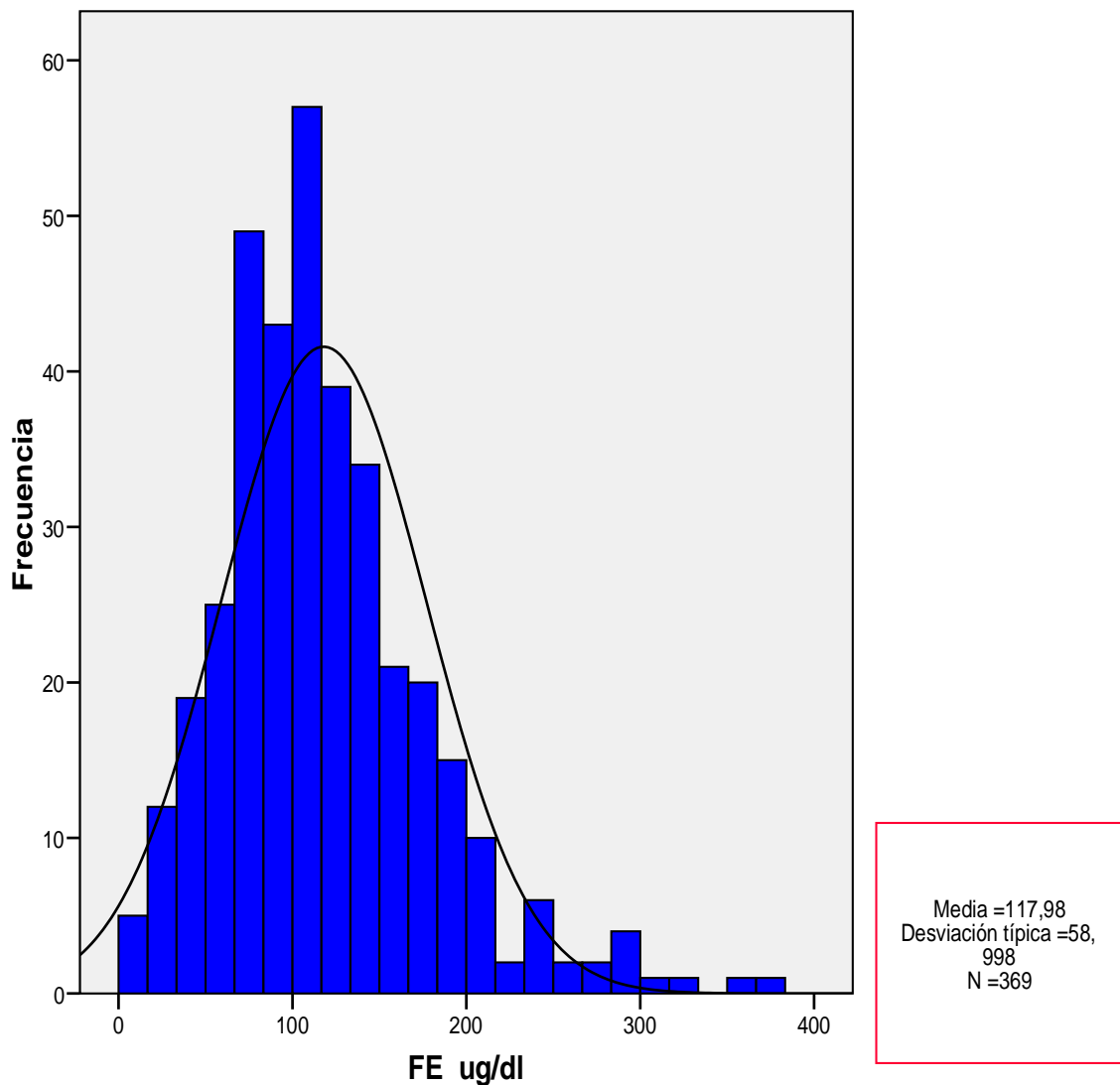


Figura 36. Descriptivo de variable cuantitativa hierro.

FERRITINA.

El valor medio de ferritina ha sido $256,24 \pm 278,830$ ug/dl, con valores comprendidos entre 12 y 1504 ug/dl. (Tabla 46 y figura 37).

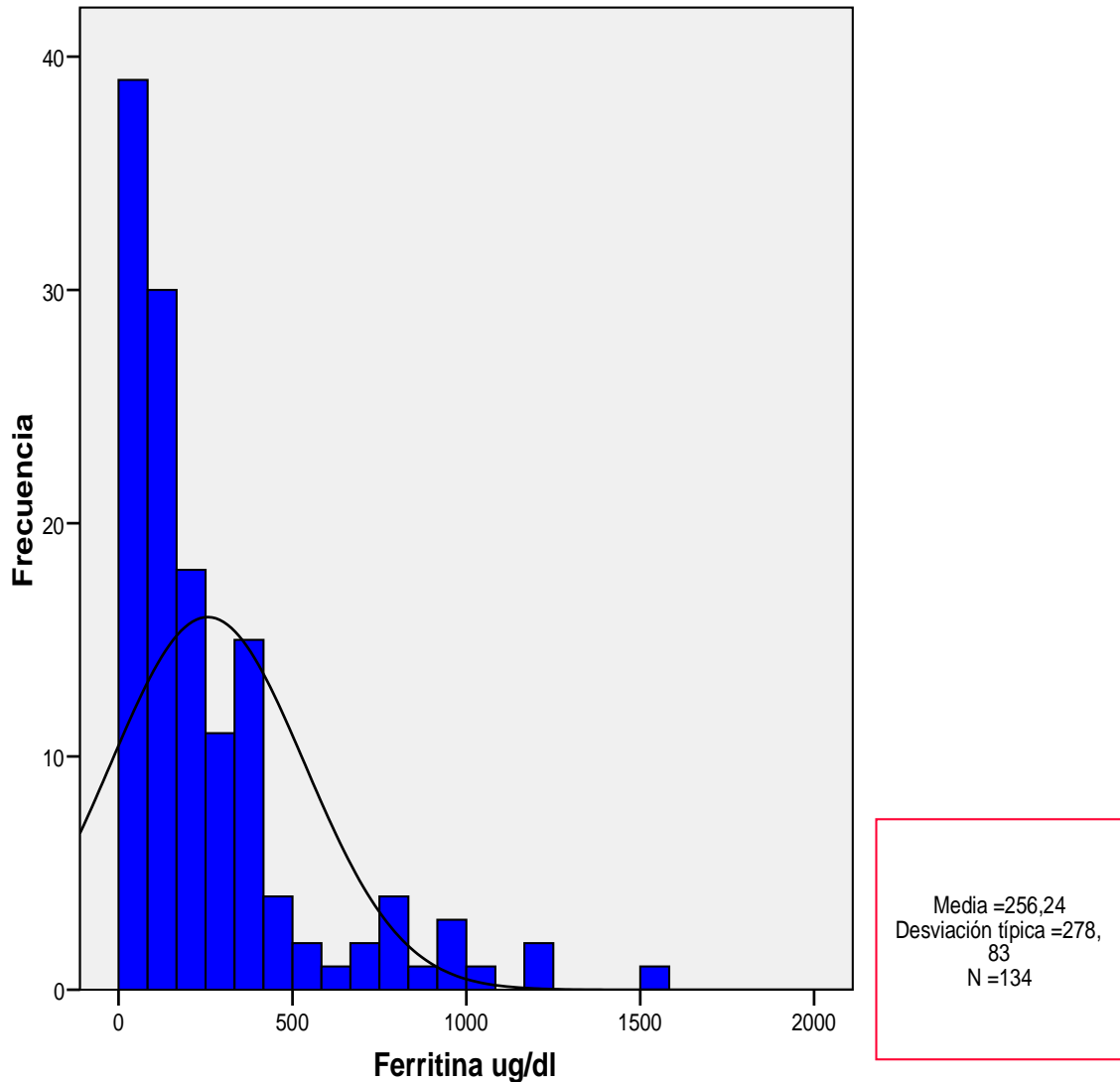


Figura 37. Descriptivo de variable cuantitativa ferritina.

FERRITINA	Válidos	134
	Perdidos	243
Media		256,24
Mediana		152,00
Moda		44
Desv. típ.		278,830
Varianza		77746,191
Mínimo		12
Máximo		1504
Percentiles	25	67,00
	50	152,00
	75	342,00

Tabla 46. Descriptivo de variable cuantitativa ferritina.

ALBÚMINA.

El valor medio de albúmina ha sido $4,02 \pm 0,542$ g/dl, con valores comprendidos entre 1,86 y 5,42 g/dl. (Tabla 47 y figura 38).

ALBÚMINA	Válidos	204
	Perdidos	173
Media		4,02
Mediana		4,11
Moda		4
Desv. típ.		0,542
Varianza		0,294
Mínimo		2
Máximo		5
Percentiles	25	3,82
	50	4,11
	75	4,40

Tabla 47. Descriptivo de variable cuantitativa albúmina.

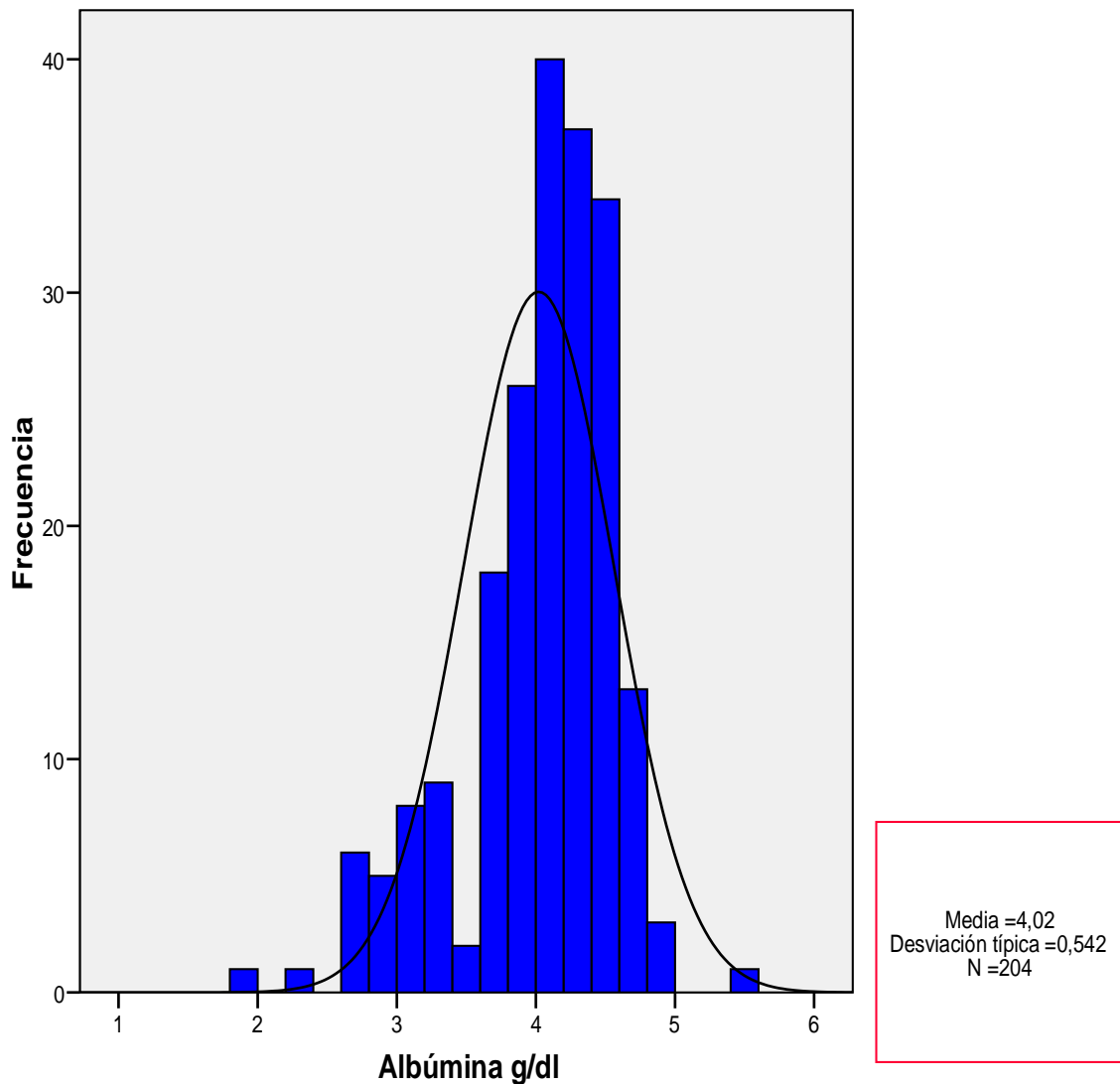


Figura 38. Descriptivo de variable cuantitativa albúmina.

ALFAFETOPROTEÍNA.

El valor medio de la AFP ha sido $126,90 \pm 1013,664$ ng/ml, con valores comprendidos entre 0,8 y 17500 ng/ml. (Tabla 48 y figura 39).

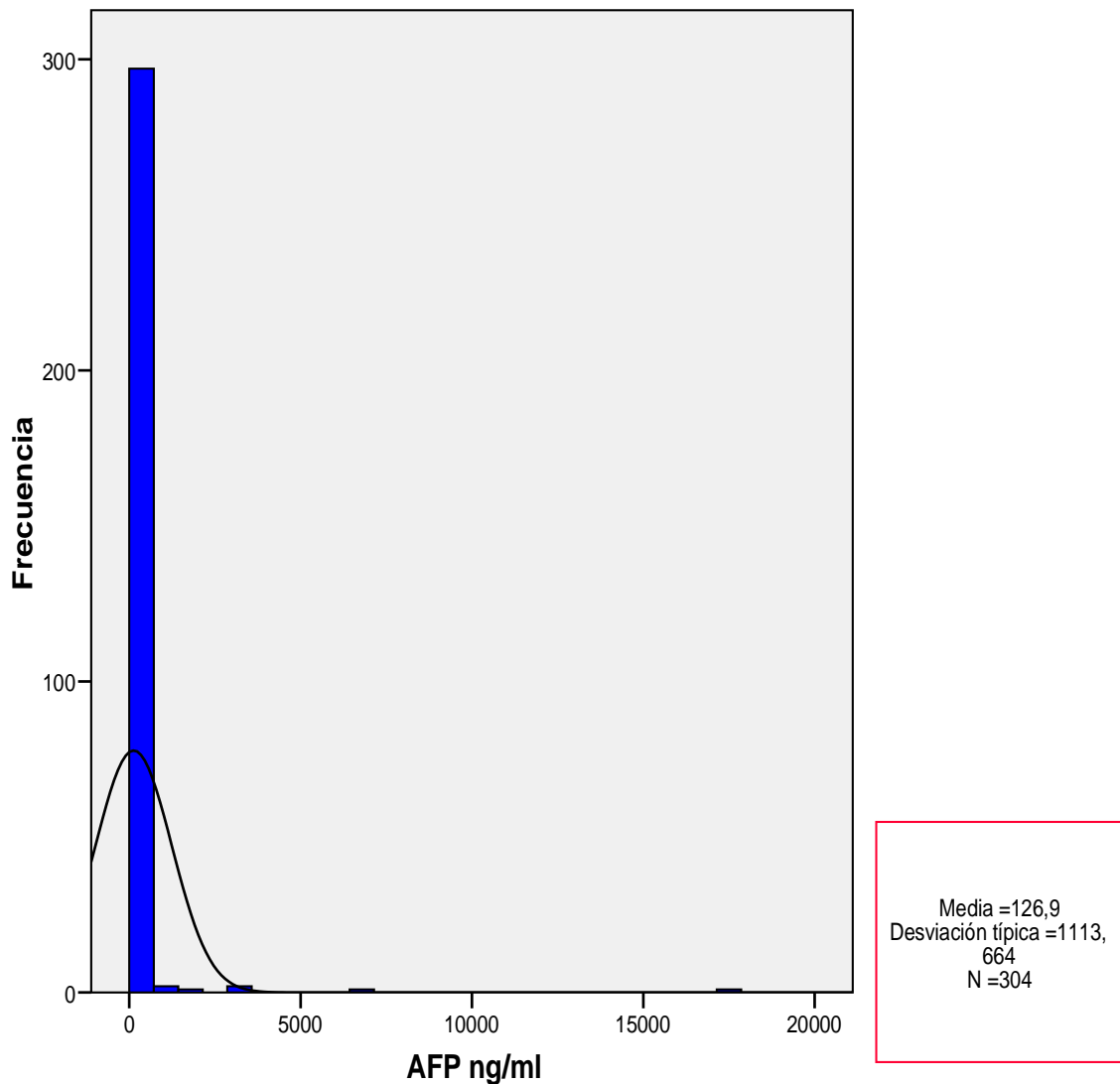


Figura 39. Descriptivo de variable cuantitativa AFP.

AFP	Válidos	304
	Perdidos	73
Media		126,90
Mediana		4,85
Moda		3
Desv. típ.		1113,664
Varianza		1240248
Mínimo		1
Máximo		17500
Percentiles	25	2,93
	50	4,85
	75	8,30

Tabla 48. Descriptivo de variable cuantitativa AFP.

HEMOGLOBINA.

El valor medio de hemoglobina ha sido $14,61 \pm 1,918$, con valores comprendidos entre 7,4 y 18,7. (Tabla 49 y figura 40).

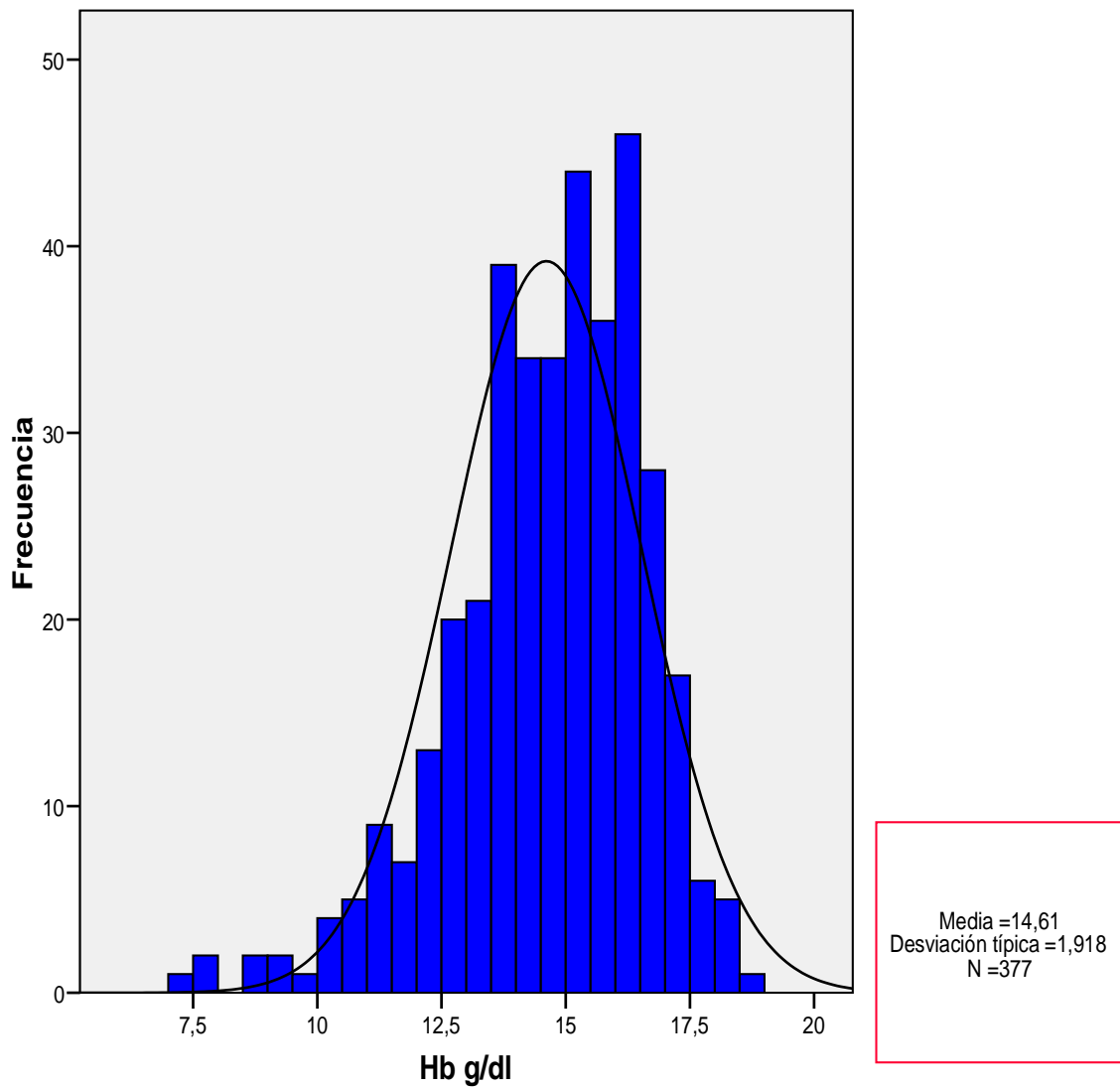


Figura 40. Descriptivo de variable cuantitativa hemoglobina.

HEMOGLOBINA	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		14,61
Mediana		14,90
Moda		14
Desv. típ.		1,918
Varianza		3,680
Mínimo		7
Máximo		19
Percentiles	25	13,50
	50	14,90
	75	16,00

Tabla 49. Descriptivo de variable cuantitativa hemoglobina.

HEMATOCRITO.

El valor medio de hematocrito ha sido $43,45 \pm 5,240$ %, con valores comprendidos entre 24,7 y 54,70 %. (Tabla 50 y figura 41).

HEMATOCRITO	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		43,45
Mediana		43,70
Moda		47
Desv. típ.		5,240
Varianza		27,458
Mínimo		25
Máximo		55
Percentiles	25	40,55
	50	43,70
	75	47,10

Tabla 50. Descriptivo de variable cuantitativa hematocrito.

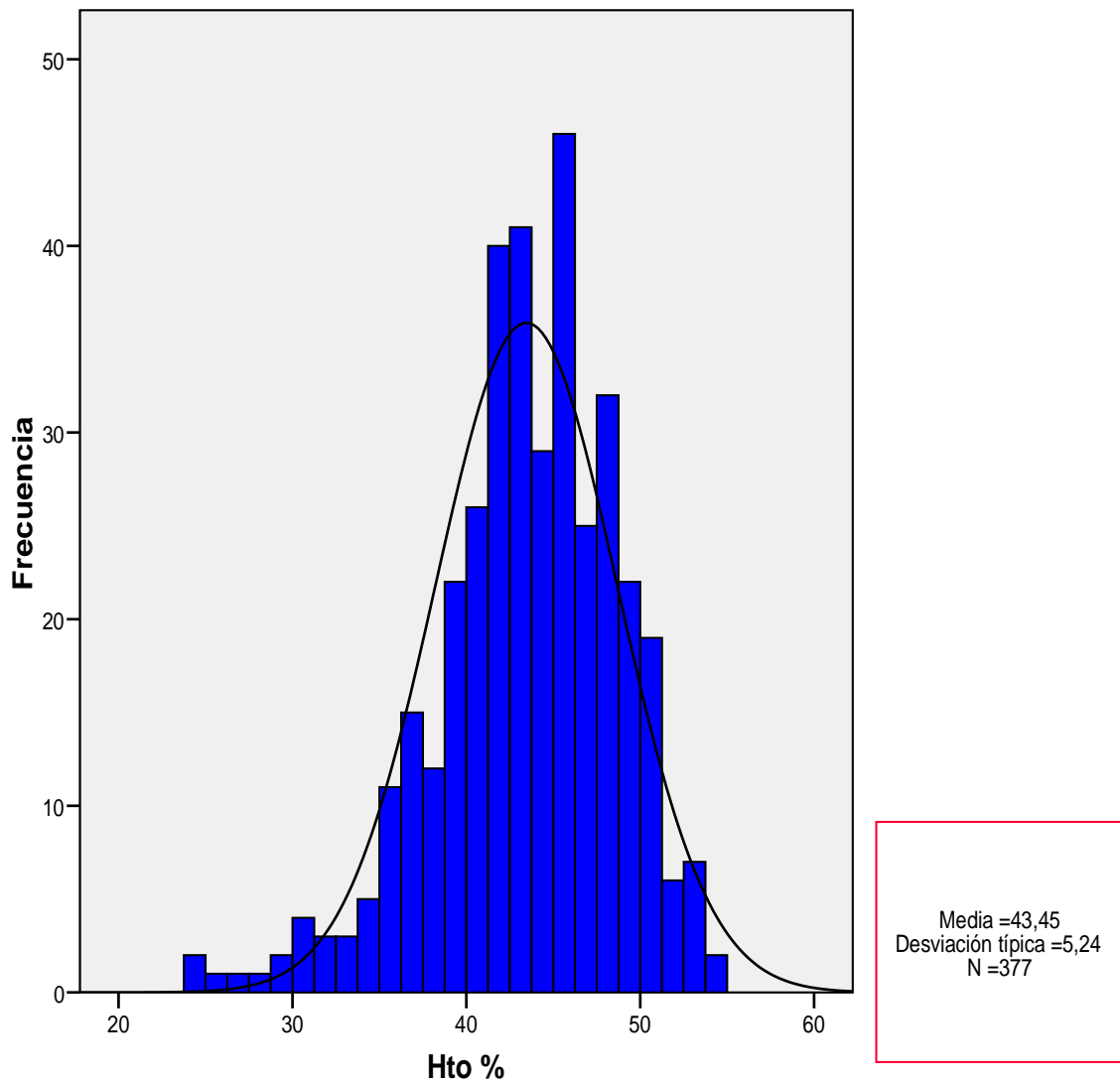


Figura 41. Descriptivo de variable cuantitativa hematocrito.

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO.

El valor medio del VCM ha sido $90,80 \pm 8,222$ fl, con valores comprendidos entre 61,20 y 126,60 fl. (Tabla 51 y figura 42).

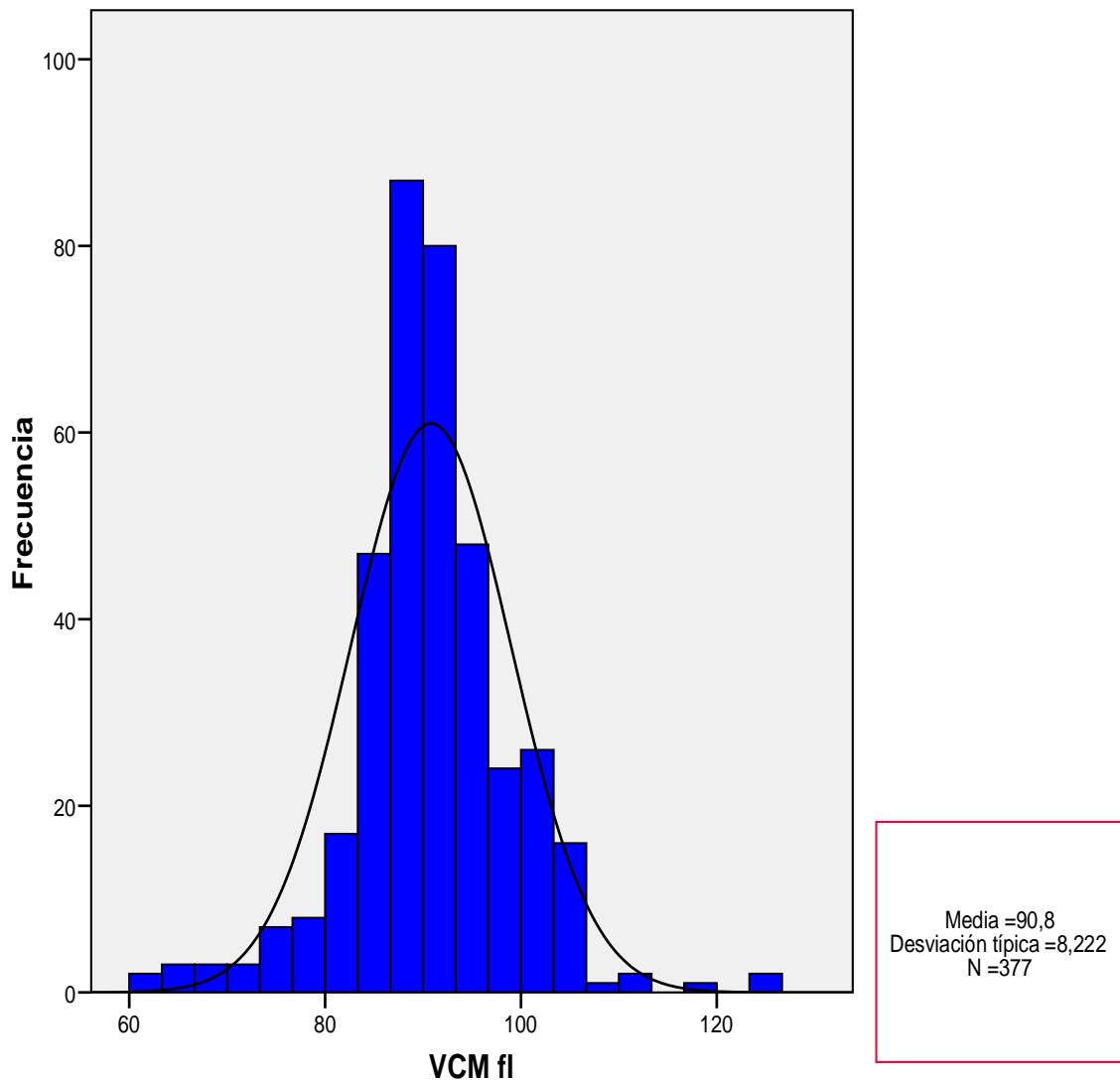


Figura 42. Descriptivo de variable cuantitativa VCM.

VCM	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		90,80
Mediana		90,50
Moda		90
Desv. típ.		8,222
Varianza		67,594
Mínimo		61
Máximo		127
Percentiles	25	86,90
	50	90,50
	75	94,90

Tabla 51. Descriptivo de variable cuantitativa VCM.

HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA.

El valor medio de HCM ha sido $30,51 \pm 2,938$ pg, con valores comprendidos entre 18,60 y 42,40 pg. (Tabla 52 y figura 43).

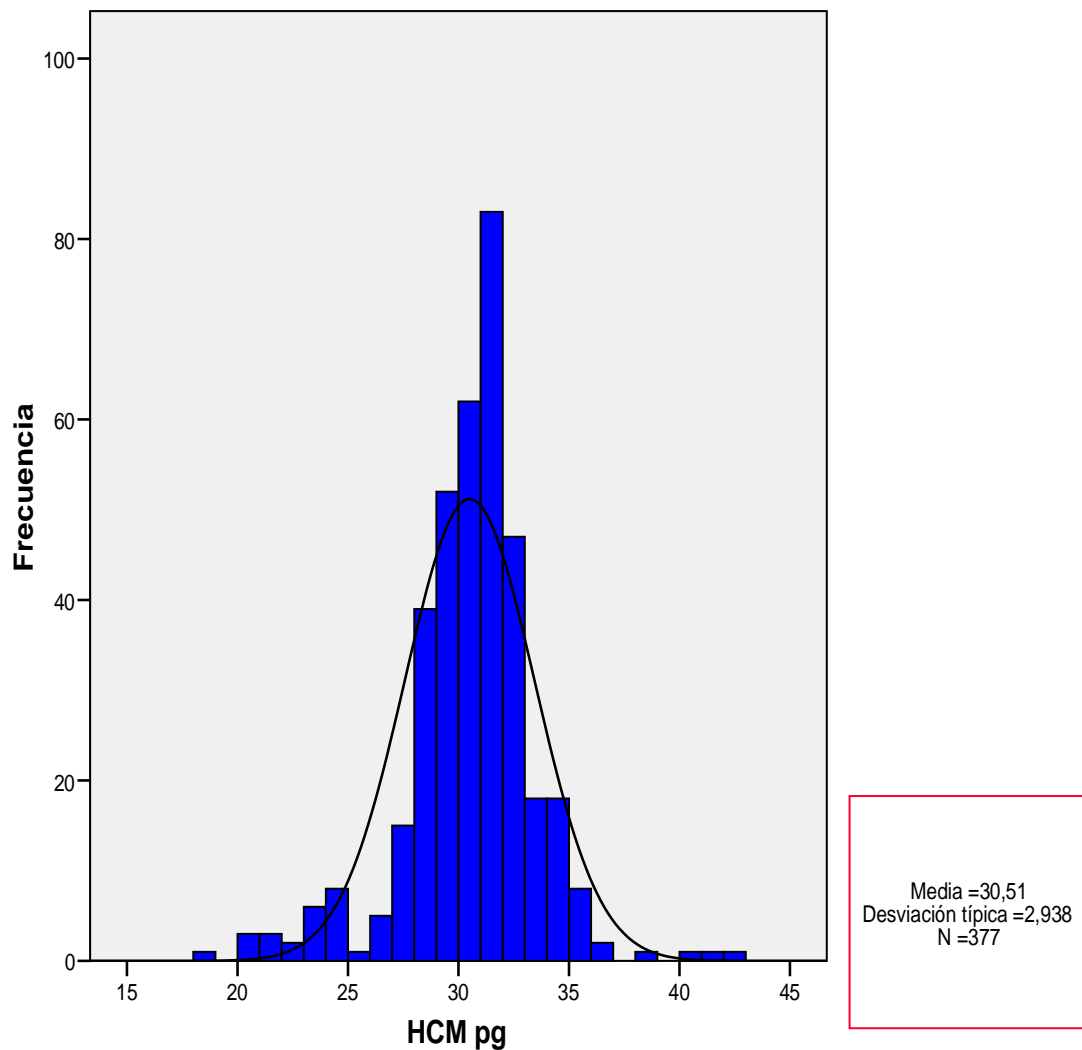


Figura 43. Descriptivo de variable cuantitativa HCM.

HCM	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		30,51
Mediana		30,80
Moda		31
Desv. típ.		2,938
Varianza		8,631
Mínimo		19
Máximo		42
Percentiles	25	29,20
	50	30,80
	75	32,00

Tabla 52. Descriptivo de variable cuantitativa HCM.

LEUCOCITOS.

El valor medio de los leucocitos ha sido $6258,99 \pm 2367,690$, con valores comprendidos entre 1800 y 18750 leucocitos. (Tabla 53 y figura 44).

LEUCOCITOS	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		6258,99
Mediana		6000,00
Moda		5600
Desv. típ.		2367,690
Varianza		5605954,832
Mínimo		1800
Máximo		18750
Percentiles	25	4700,00
	50	6000,00
	75	7295,00

Tabla 53. Descriptivo de variable cuantitativa leucocitos.

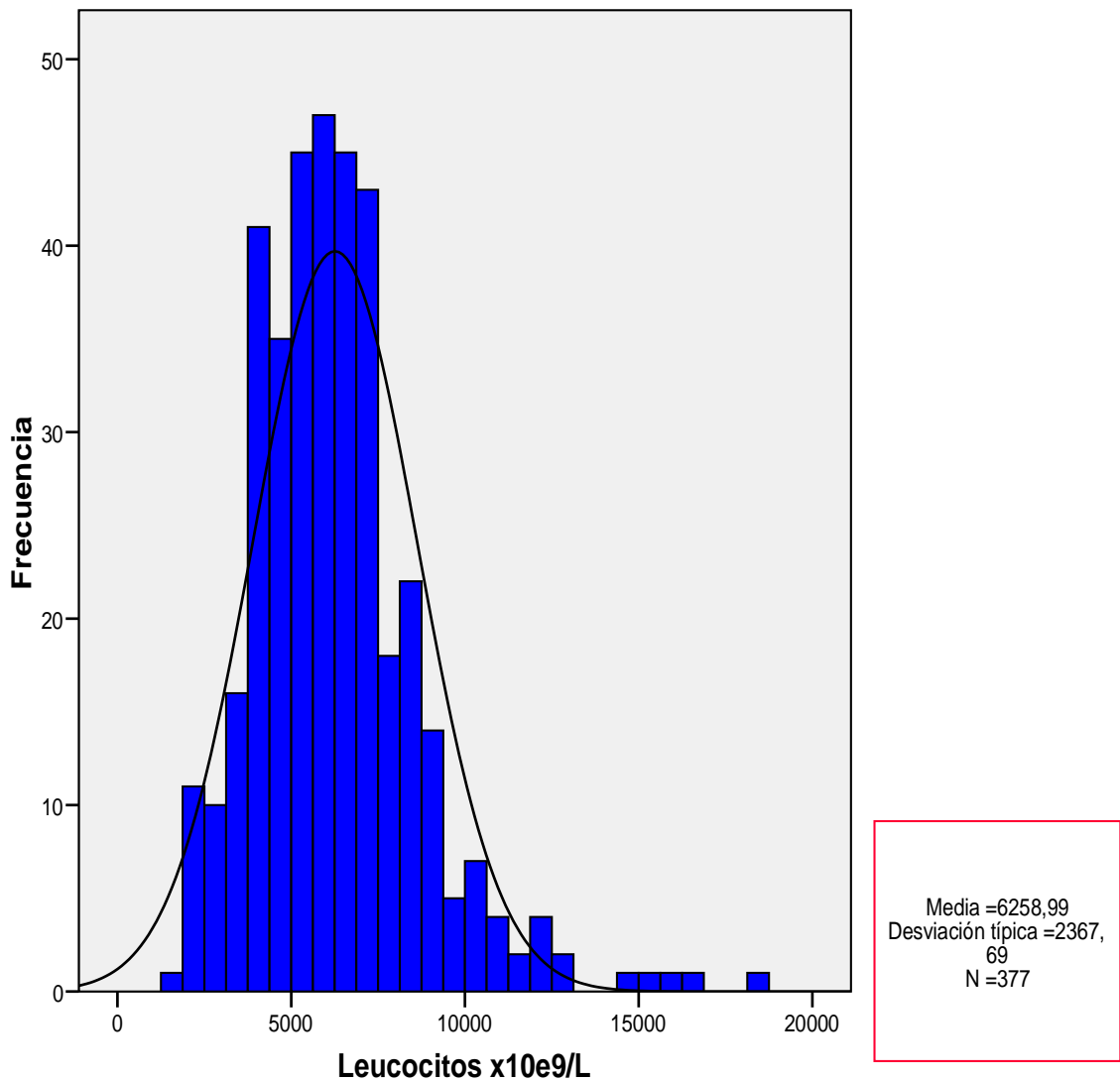


Figura 44. Descriptivo de variable cuantitativa leucocitos.

PLAQUETAS.

El valor medio de plaquetas ha sido $193273,21 \pm 83195,439$, con valores comprendidos entre 30000 y 608000 plaquetas. (Tabla 54 y figura 45).

PLAQUETAS	Válidos	377
	Perdidos	0
Media		193273,21
Mediana		191000,00
Moda		91000
Desv. típ.		83195,439
Varianza		6921481009,0
Mínimo		30000
Máximo		608000
Percentiles	25	134500,00
	50	191000,00
	75	242000,00

Tabla 54. Descriptivo de variable cuantitativa plaquetas.

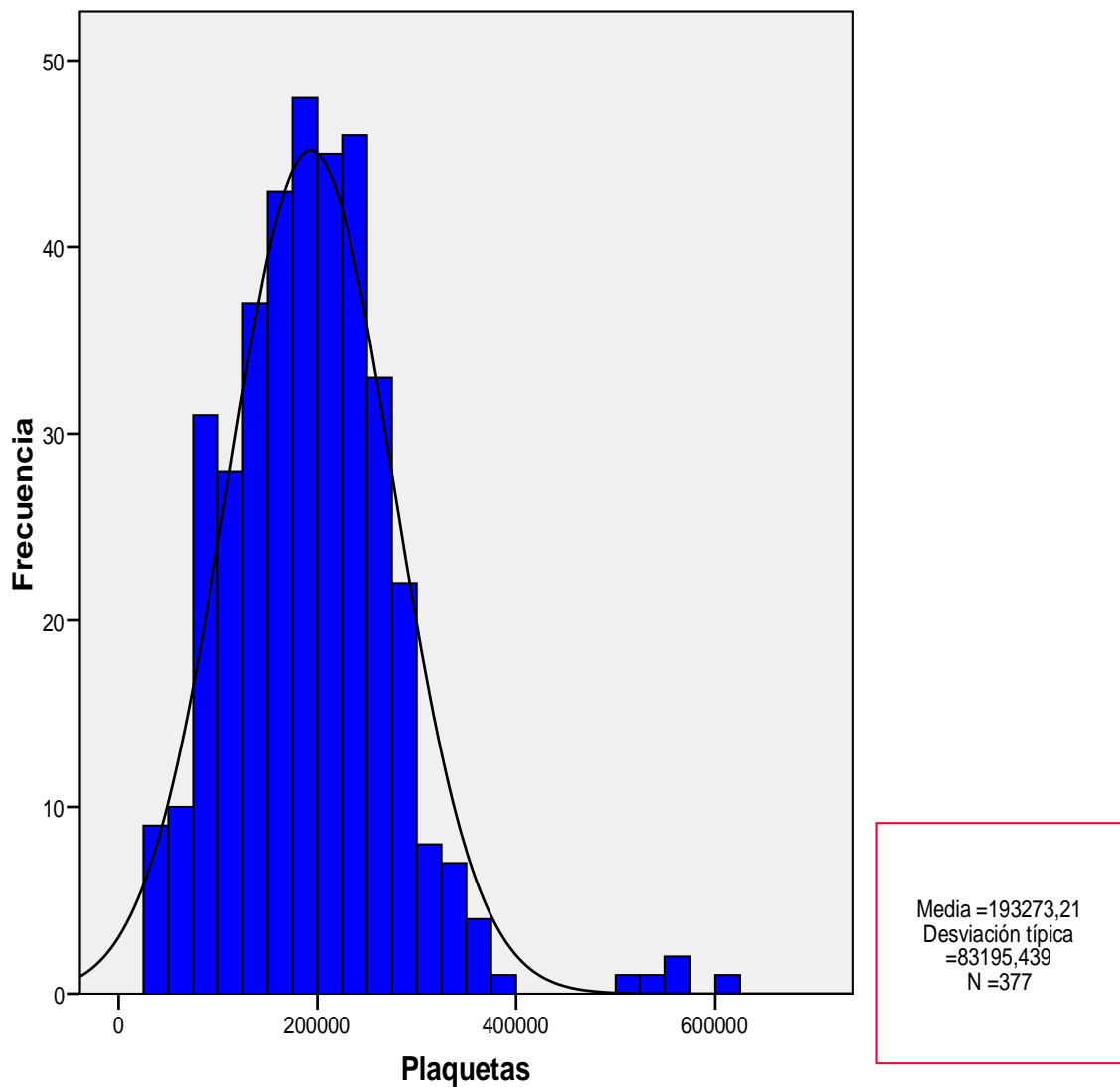


Figura 45. Descriptivo de variable cuantitativa plaquetas.

TIEMPO DE PROTROMBINA.

El tiempo medio de protrombina ha sido $12,56 \pm 2,322$ segundos, con valores comprendidos entre 10,10 y 42,90 segundos. (Tabla 55 y figura 46).

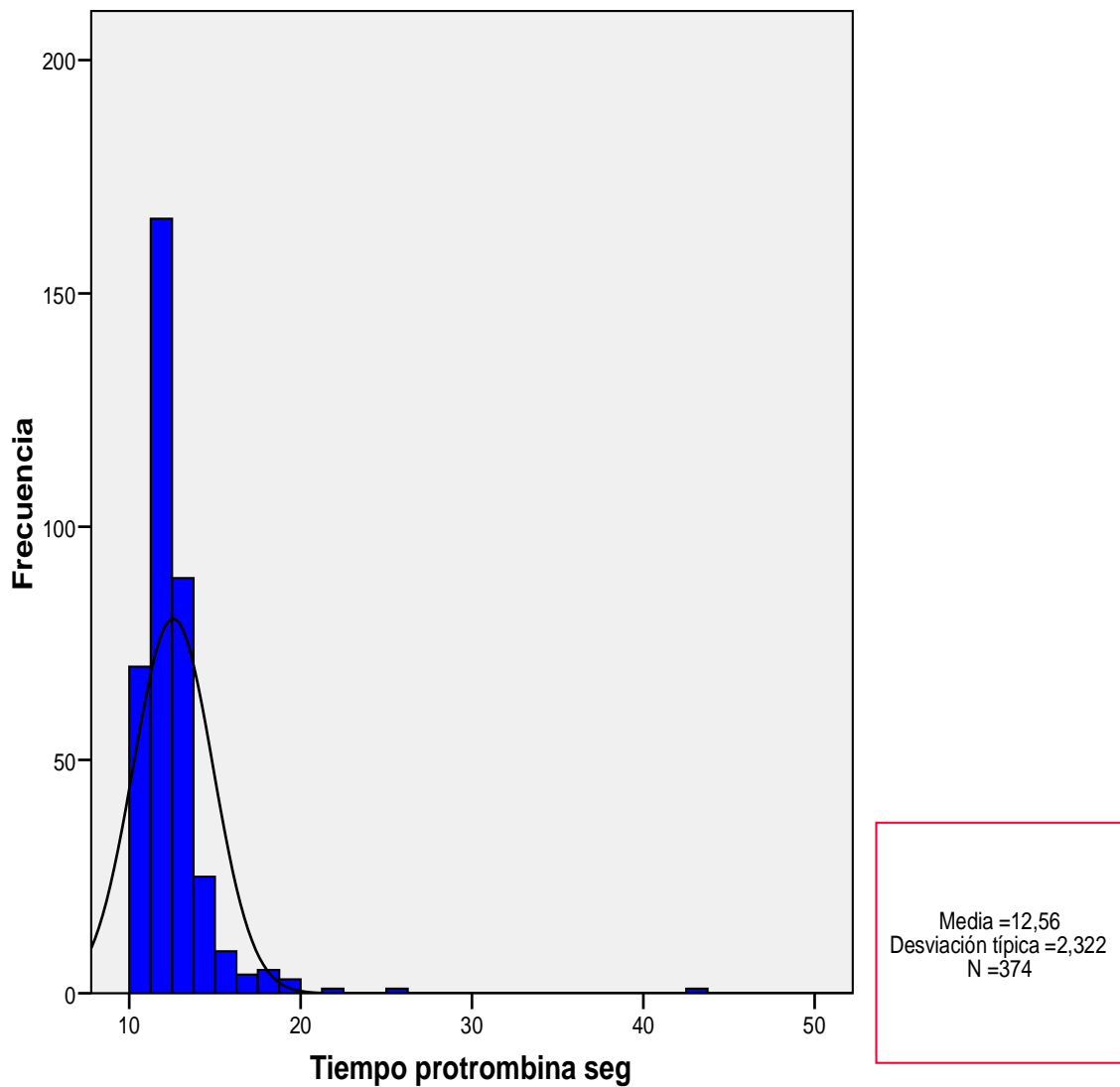


Figura 46. Descriptivo de variable cuantitativa tiempo de protrombina.

TIEMPO DE PROTROMBINA	Válidos Perdidos	374 3
Media		12,56
Mediana		12,10
Moda		12
Desv. típ.		2,322
Varianza		5,389
Mínimo		10
Máximo		43
Percentiles	25	11,50
	50	12,10
	75	12,93

Tabla 55. Descriptivo de variable cuantitativa tiempo de protrombina.

ACTIVIDAD DE PROTROMBINA.

La actividad de protrombina media ha sido $96,60 \pm 16,515$ %, con valores comprendidos entre 19,50 y 119,90 %. (Tabla 56 y figura 47).

ACTIVIDAD DE PROTROMBINA	Válidos Perdidos	374 3
Media		96,60
Mediana		99,95
Moda		117
Desv. típ.		16,515
Varianza		272,747
Mínimo		20
Máximo		120
Percentiles	25	89,43
	50	99,95
	75	107,80

Tabla 56. Descriptivo de variable cuantitativa actividad de protrombina.

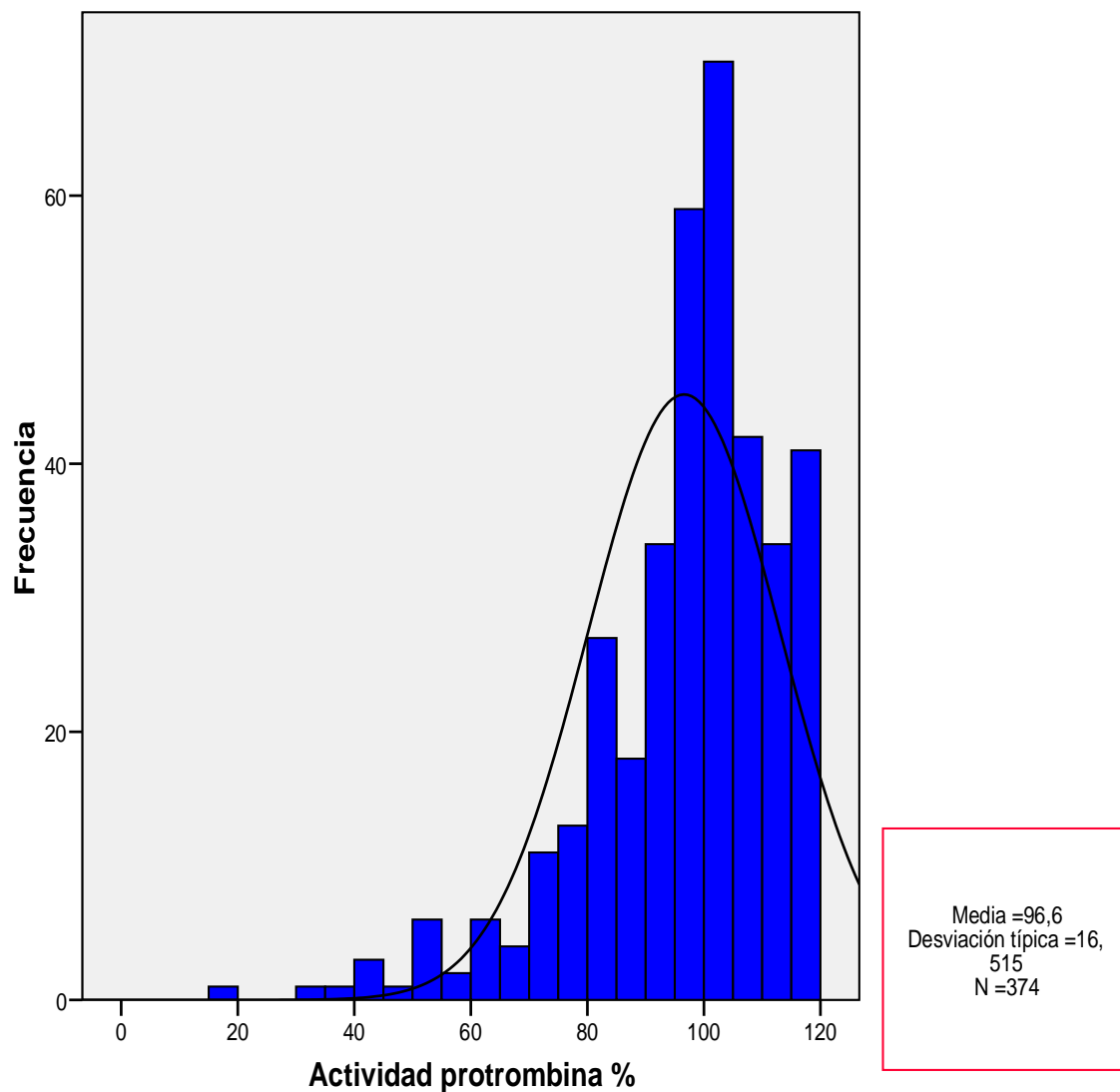


Figura 47. Descriptivo de variable cuantitativa actividad de protrombina.

DESARROLLO DE FIBROSIS HEPÁTICA SIGNIFICATIVA.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE FIBROSIS SIGNIFICATIVA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaron fibrosis hepática y aquellos que no incluyendo variables cualitativas, encontrando diferencias significativas solamente con cirrosis hepática y hepatocarcinoma de significación menor de 0,05.

SEXO.

Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo, cuando comparamos al grupo de pacientes con y sin fibrosis hepática. (Tabla 57 y figura 48).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
SEXO, Nº (%)			0,908 (NS)
VARÓN	140 (40,3%)	88 (25,4%)	
MUJER	74 (21,3%)	45 (13%)	

Tabla 57. Diferencias de frecuencias de varones y mujeres en pacientes con y sin fibrosis hepática. NS (No significativo).

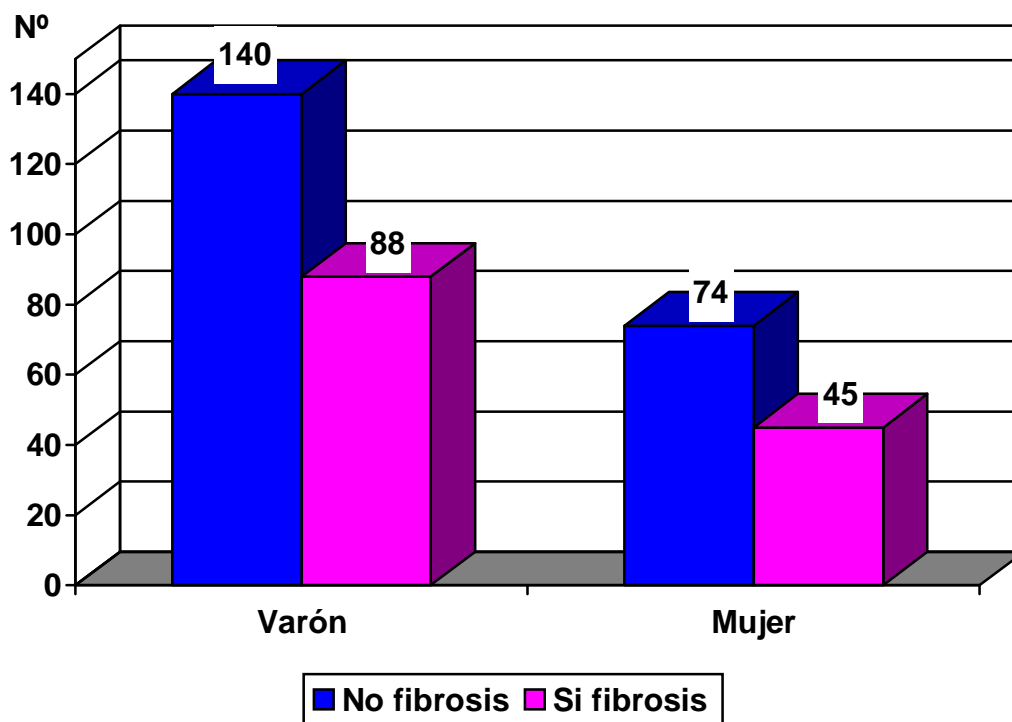


Figura 48. Diferencias de frecuencias de varones y mujeres en pacientes con y sin fibrosis hepática.

GENOTIPO.

No se encontraron diferencias significativas en cuanto al genotipo, cuando comparamos al grupo de pacientes con fibrosis y sin fibrosis hepática significativa, cuando empleamos *el test de Chi-cuadrado de Pearson*. (Tabla 58 y figura 49).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			
GEN 1	114 (44,0%)	66 (25,5%)	0,895 (NS)
GEN 2	2 (0,8%)	2 (0,8%)	
GEN 3	28 (10,8%)	14(5,4%)	
GEN 4	22 (8,5%)	11 (4,2%)	

Tabla 58. Diferencias de frecuencias de diferentes genotipos en pacientes con y sin fibrosis hepática.

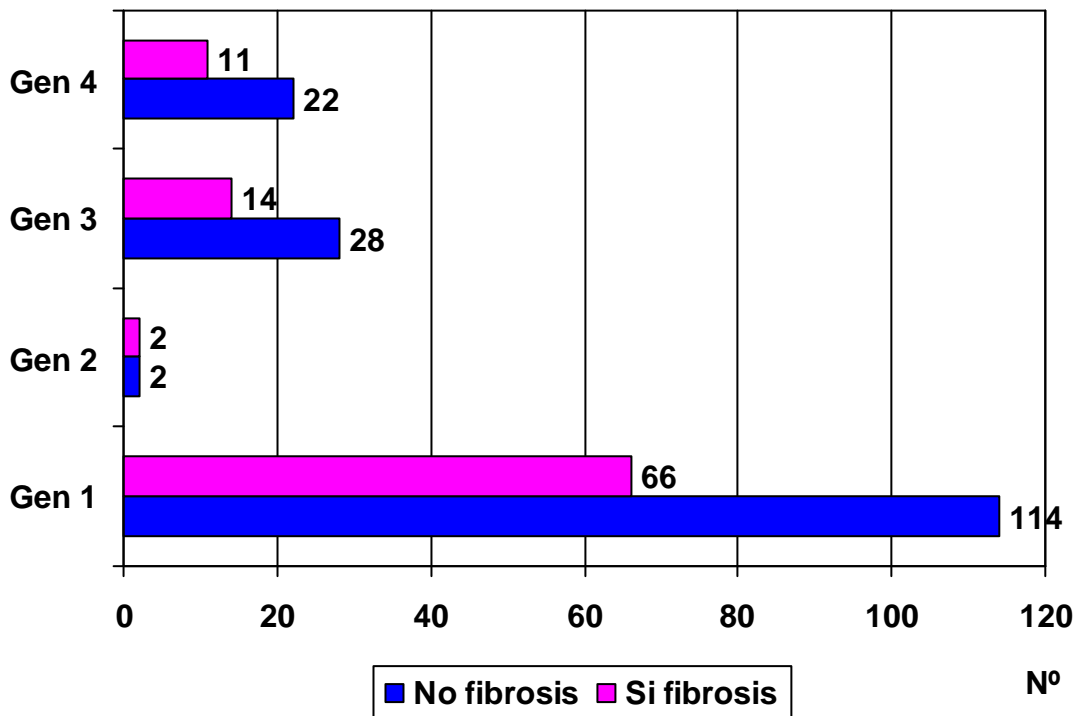


Figura 49. Diferencias de frecuencias de diferentes genotipos en pacientes con y sin fibrosis hepática.

Dado que no se han encontrado diferencias significativas en cuanto al genotipo, probablemente por el escaso número de pacientes con algunos de ellos, hemos procedido a categorizar esta variable en genotipo 1 y genotipo diferente de 1. Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher* tampoco se encontraron diferencias significativas. (Tabla 59 y figura 50).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			0,779 (NS)
GEN 1	114 (44,0%)	66 (25,5%)	
GEN DIFERENTE 1	52 (20,1%)	27 (10,4%)	

Tabla 59. Diferencias de frecuencias de genotipo 1 y diferente 1 en pacientes con y sin fibrosis hepática.

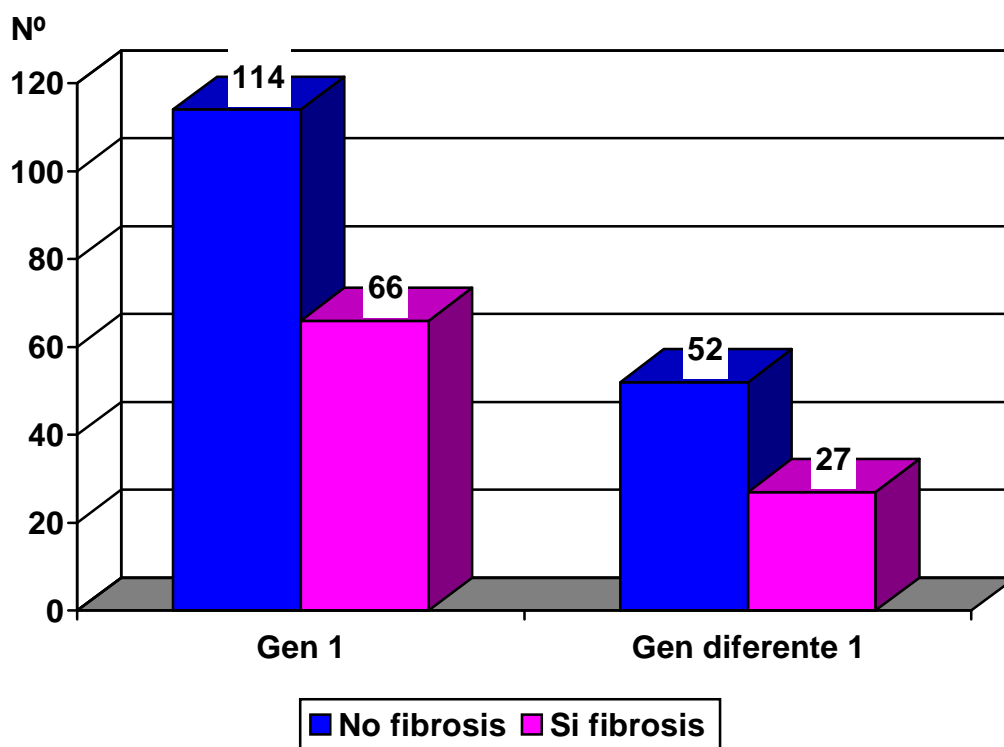


Figura 50. Diferencias de frecuencias de genotipo 1 y diferente 1 en pacientes con y sin fibrosis hepática.

CIRROSIS HEPÁTICA.

En el caso de la cirrosis hepática, si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 60 y figura 51).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CIRROSIS HEPÁTICA, Nº (%)			0,0001
NO CIRROSIS	214 (61,7%)	70 (20,2%)	
SI CIRROSIS	0 (0,0%)	63 (18,2%)	

Tabla 60. Diferencias de frecuencias en cuanto a cirrosis hepática en pacientes con y sin fibrosis hepática.

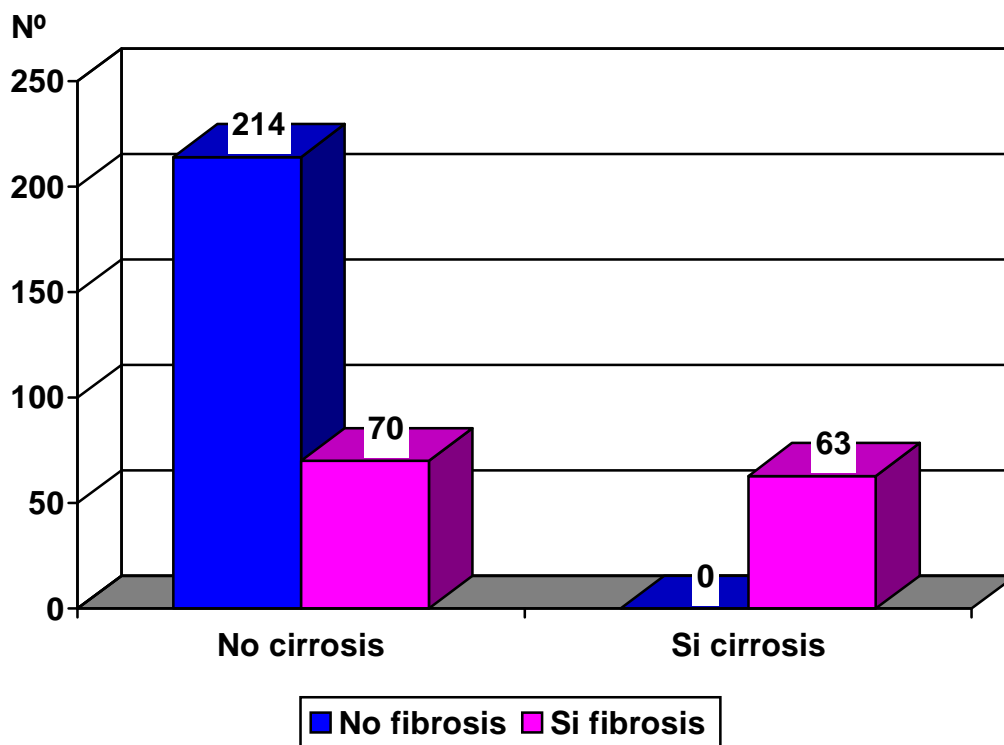


Figura 51. Diferencias de frecuencias en cuanto a cirrosis hepática en pacientes con y sin fibrosis hepática.

HEPATOCARCINOMA.

En el caso del hepatocarcinoma, si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 61 y figura 52).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
HEPATOCARCINOMA, Nº (%)			0,0001
NO HEPATOCACINOMA	214 (61,7%)	123 (35,4%)	
SI HEPATOCARCINOMA	0 (0,0%)	10 (2,9%)	

Tabla 61. Diferencias de frecuencias en cuanto a hepatocarcinoma en pacientes con y sin fibrosis hepática.

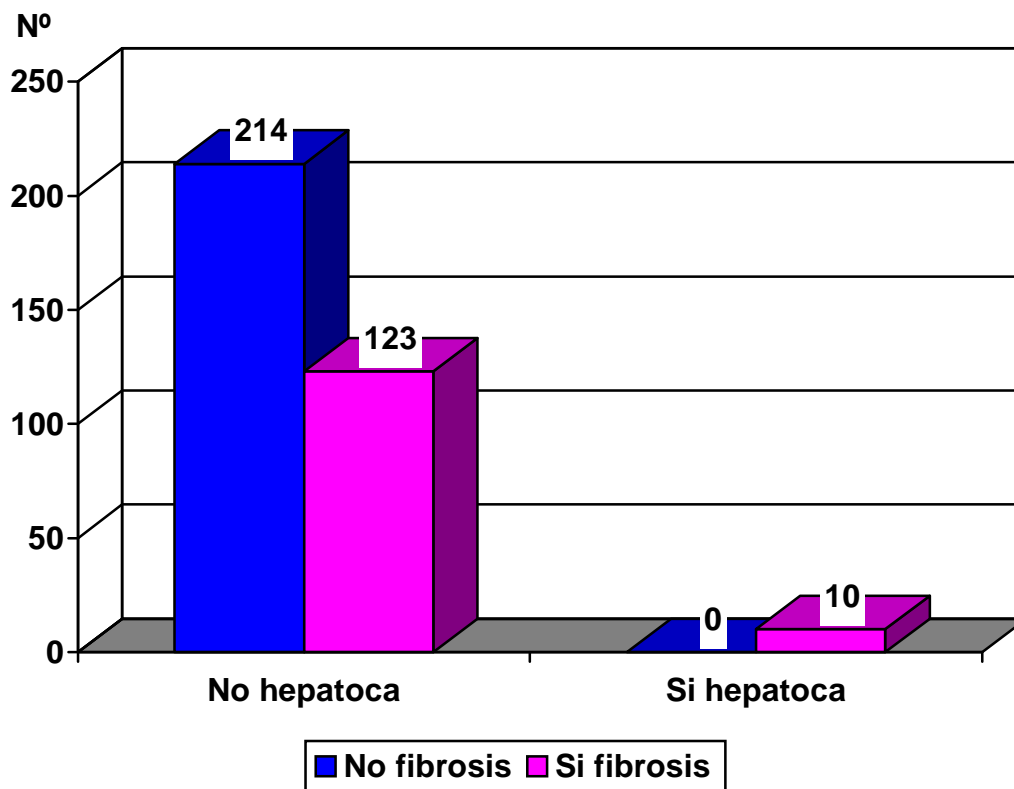


Figura 52. Diferencias de frecuencias en cuanto a hepatocarcinoma en pacientes con y sin fibrosis hepática.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 1 (< O > 500,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 500.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 62 y figura 53).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 1, Nº (%)			0,553
CARGA VIRAL BAJA	70 (20,2%)	39 (11,2%)	
CARGA VIRAL ALTA	144 (41,5 %)	94 (27,1%)	

Tabla 62. Diferencias de frecuencias en cuanto a carga viral categorizada en pacientes con y sin fibrosis hepática.

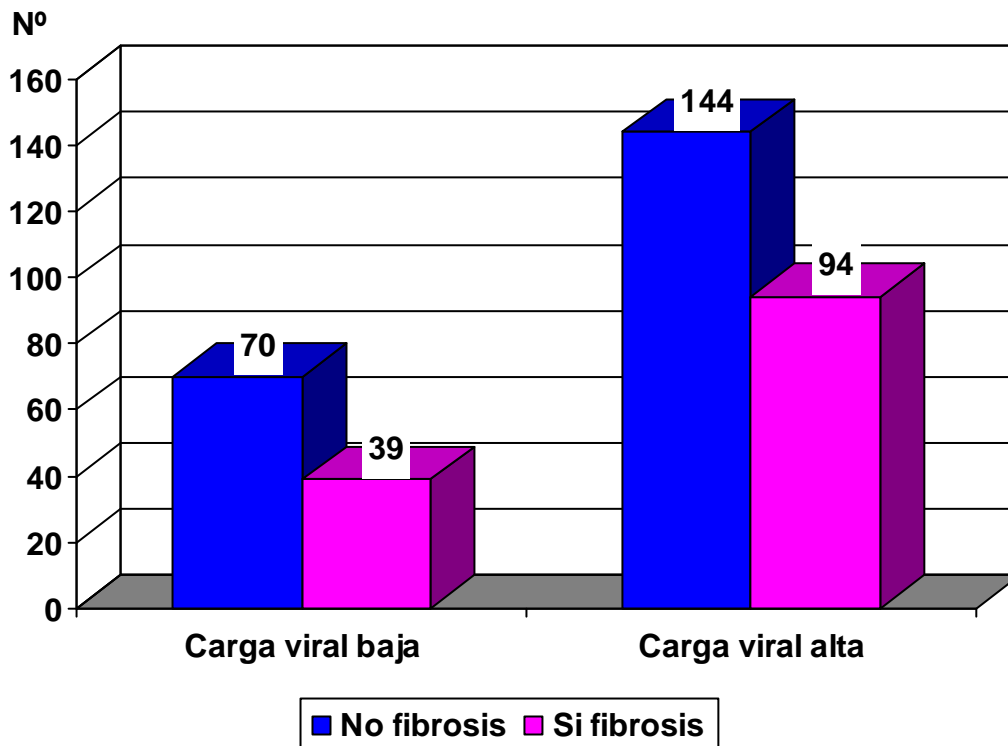


Figura 53. Diferencias de frecuencias en cuanto a carga viral categorizada en pacientes con y sin fibrosis hepática.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 2 (< O > 300,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 300.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 63 y figura 54).

VARIABLES CUALITATIVAS	FIBROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 2, Nº (%)			
CARGA VIRAL BAJA	53 (15,3%)	30 (8,6%)	0,699
CARGA VIRAL ALTA	161 (46,4 %)	103 (29,7%)	

Tabla 63. Diferencias de frecuencias en cuanto a carga viral categorizada en pacientes con y sin fibrosis hepática.

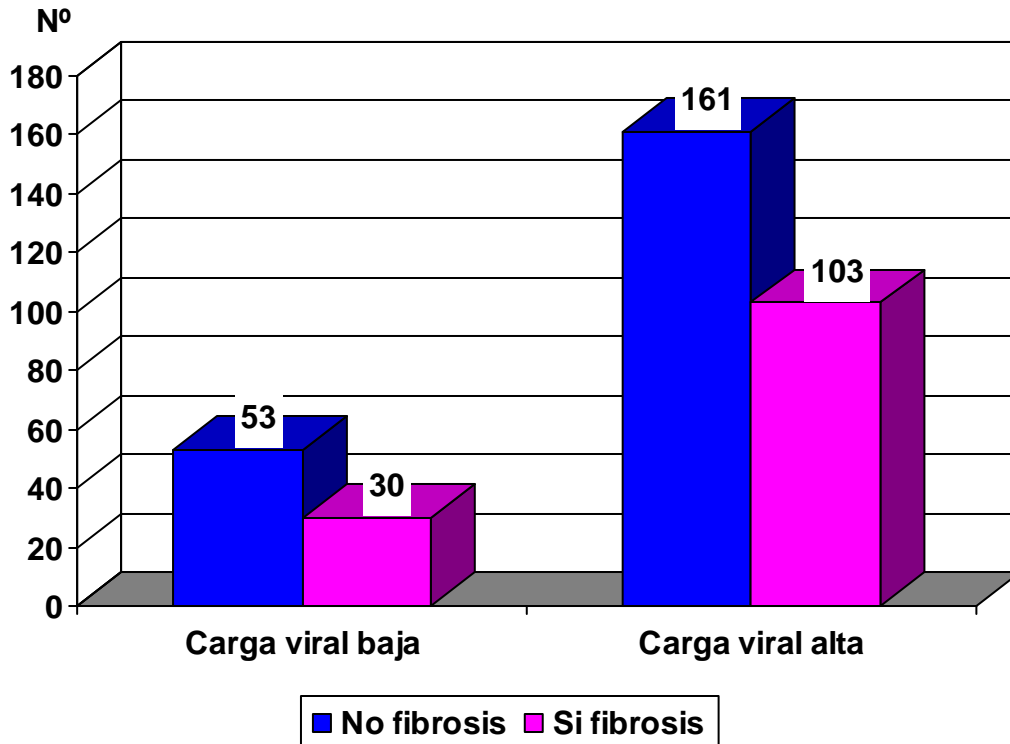


Figura 54. Diferencias de frecuencias en cuanto a carga viral categorizada en pacientes con y sin fibrosis hepática.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE FIBROSIS SIGNIFICATIVA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaban fibrosis hepática y aquellos que no la presentaron incluyendo variables cuantitativas. Se observaron diferencias significativas en cuanto a edad, glucosa, ácido úrico, colesterol, bilirrubina total, GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, LDH, hierro, ferritina, albúmina, carga viral, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, leucocitos, plaquetas, tiempo y actividad de protrombina, con un nivel de significación inferior a 0,05. (Tabla 64)

VARIABLE	NO FIBROSIS (N=214)	SI FIBROSIS (N=133)	p (significación)
media±desviación típica			
Edad	45,46±10,824	57,62±13,970	0,0001
Glucosa mg/dl	98,19±23,574	113,53±37,542	0,0001
Urea mg/dl	33,99±21,311	39,77±31,582	0,064 (NS)
Crea mg/dl	1,10±1,098	1,39±1,717	0,089 (NS)
Ácido úrico mg/dl	5,05±1,374	5,45±1,613	0,014
Colesterol mg/dl	181,04±36,567	163,62±43,598	0,0001
Triglicéridos mg/dl	114,69±80,954	116,65±94,924	0,839 (NS)
Bilirrubina total mg/dl	0,76±0,370	1,58±1,435	0,0001
GOT U/L	44,17±20,619	114,11±78,145	0,0001
GPT U/L	64,68±45,039	124,59±99,888	0,0001
GGT U/L	75,79±91,106	146,28±145,945	0,0001
Fosfatasa alcalina U/L	81,54±27,942	117,64±53,575	0,0001
LDH U/L	382,84±76,707	440,17±118,614	0,0001
Hierro ug/dl	111,79±50,572	129,48±71,365	0,014
Ferritina ug/dl	202,09±221,441	340,83±344,00	0,020
Proteínas totales g/dl	7,59±0,550	7,63±0,658	0,507 (NS)
Albúmina g/dl	4,25±0,379	3,76±0,602	0,0001
AFP ng/ml	4,73±5,433	318,50±1803,083	0,066 (NS)
RNA PCR UI/ml	4402302,84±5202316,804	3124153,25±3798401,644	0,009
Hemoglobina g/dl	14,87±1,751	14,12±2,125	0,0001
Hematocrito %	44,04±4,933	42,34±5,667	0,003
VCM fl	89,24±6,744	93,33±10,060	0,0001
HCM pg	30,13±2,444	31,08±3,654	0,008
Leucocitos x10e ⁹ /L	6921,12±2439,039	5265,86±1956,056	0,0001
Plaquetas	238140,19±72458,432	124353,38±50821,612	0,0001
Tiempo protrombina seg	11,81±0,938	13,88±3,339	0,0001
Actividad protrombina %	103,31±10,323	85,22±19,309	0,0001

Tabla 64. Valores analíticos medios de los pacientes con y sin fibrosis significativa en el análisis univariante.

- Edad: La edad media en el grupo de pacientes con fibrosis significativa (57,62±13,970) fue superior al del grupo de pacientes sin fibrosis (45,46±10,824); p<0,0001. (Figura 55).

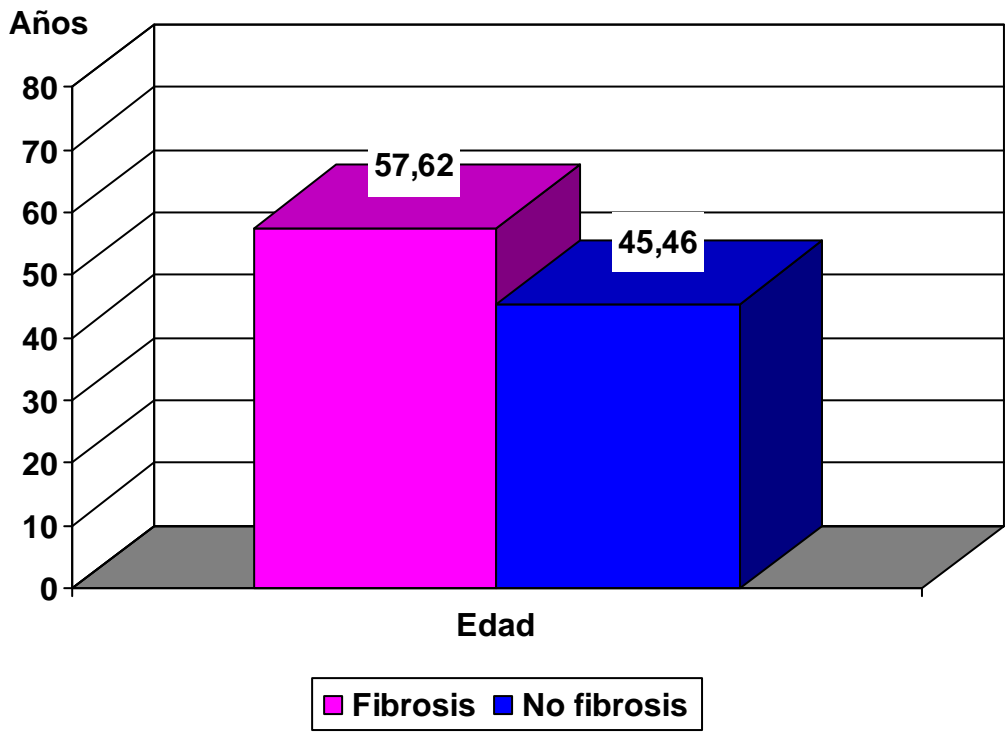


Figura 55. Edad media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Glucosa: El valor medio de glucosa en el grupo de pacientes con fibrosis ($113,53 \pm 37,542$) fue superior al del grupo de pacientes sin fibrosis ($98,19 \pm 23,574$); $p < 0,0001$. (Figura 56).

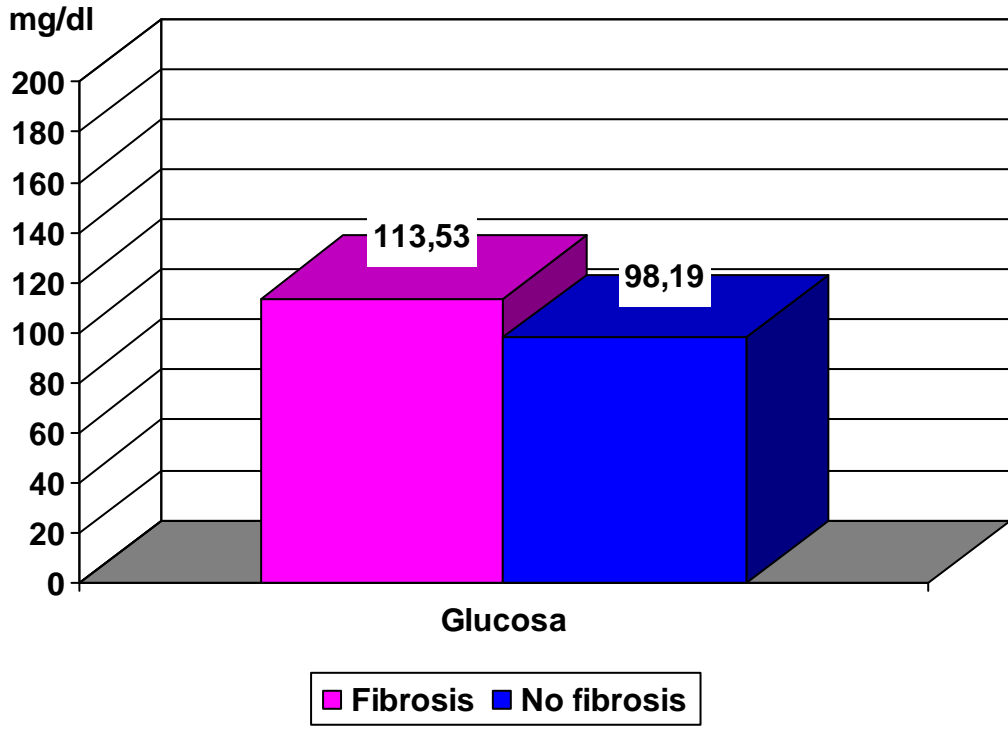


Figura 56. Glucosa media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Urea: No se observaron diferencias significativas en los niveles de urea al comparar al grupo de pacientes con fibrosis hepática y sin fibrosis.
- Creatinina: No se observaron diferencias significativas en los niveles de creatinina al comparar al grupo de pacientes con fibrosis hepática con los pacientes no fibróticos.
- Ácido úrico: El valor medio de ácido úrico en el grupo de pacientes con fibrosis ($5,45 \pm 1,613$) fue superior al de los pacientes sin fibrosis ($5,05 \pm 1,374$); $p < 0,05$. (Figura 57).

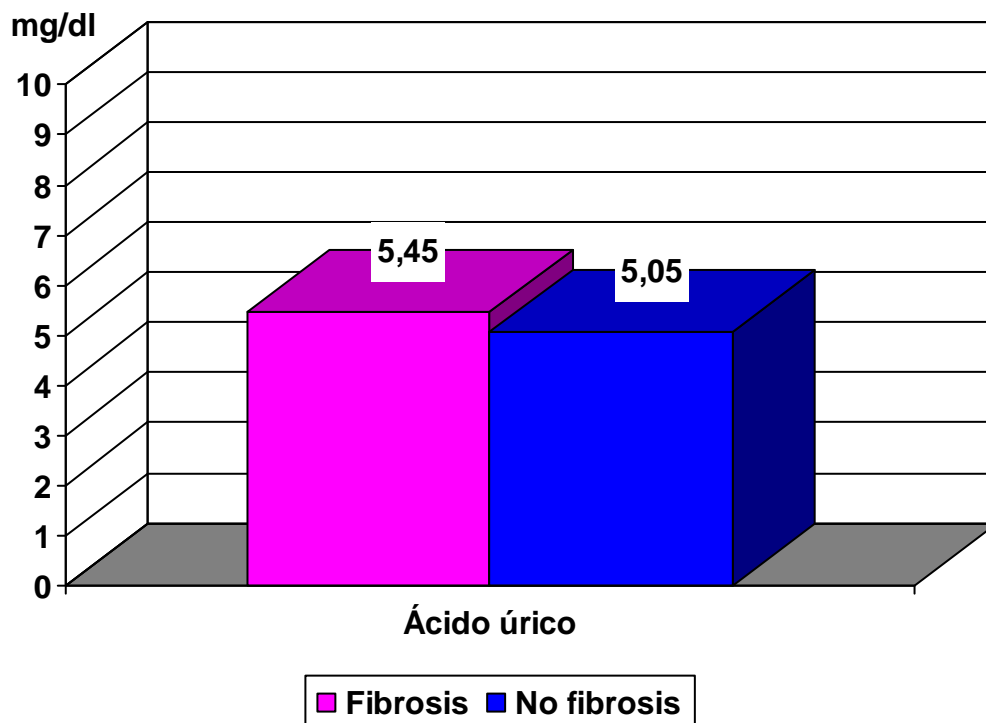


Figura 57. Valor medio de ácido úrico según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- Colesterol: El valor medio de colesterol fue superior en el grupo de pacientes no fibróticos ($181,04 \pm 36,567$) con respecto al grupo de fibróticos ($163,62 \pm 43,598$); $p < 0,0001$. (Figura 58).

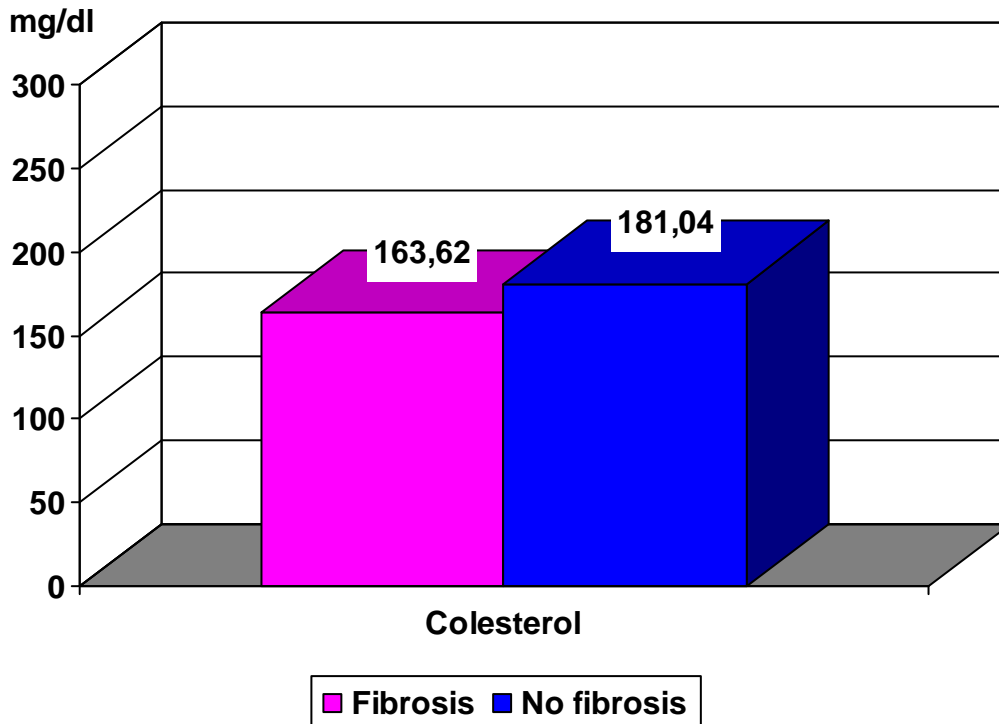


Figura 58. Valor medio de colesterol según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Triglicéridos: No se encontraron diferencias significativas en los valores de triglicéridos al comparar el grupo de pacientes con y sin fibrosis hepática.
- Bilirrubina total: Los valores de bilirrubina total media fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con fibrosis ($1,58 \pm 1,435$) con respecto a aquellos pacientes no fibróticos ($0,76 \pm 0,370$); $p < 0,0001$. (Figura 59).

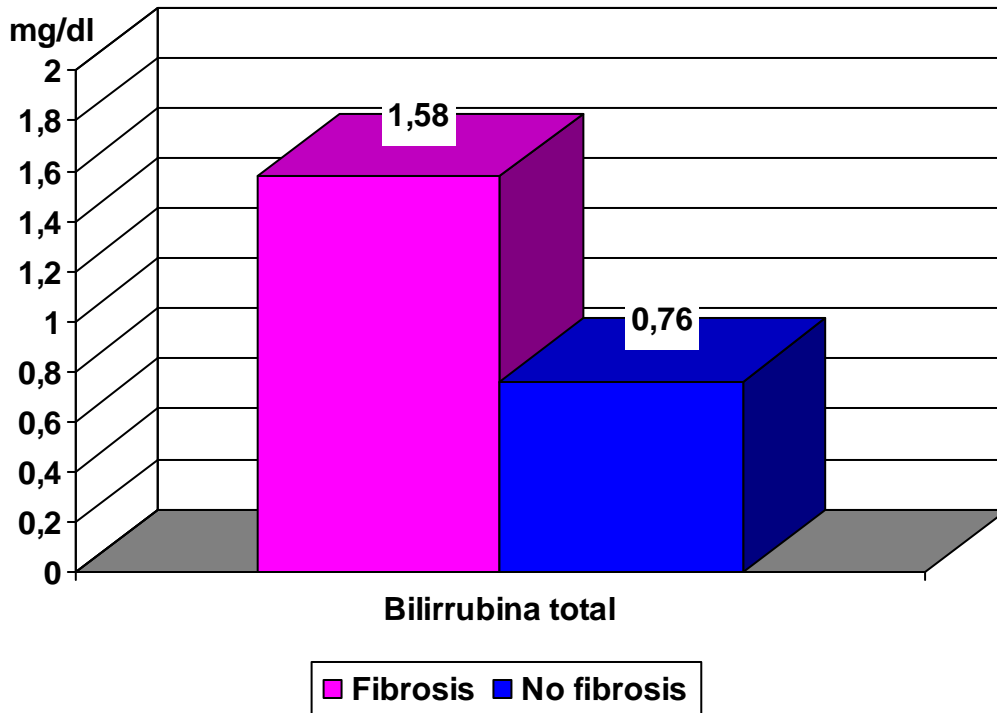


Figura 59. Bilirrubina total media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- GOT: Se apreciaron valores de GOT significativamente más elevados en los pacientes con fibrosis hepática ($114,11 \pm 78,145$ vs $44,17 \pm 20,619$); $p < 0,0001$. (Figura 60).

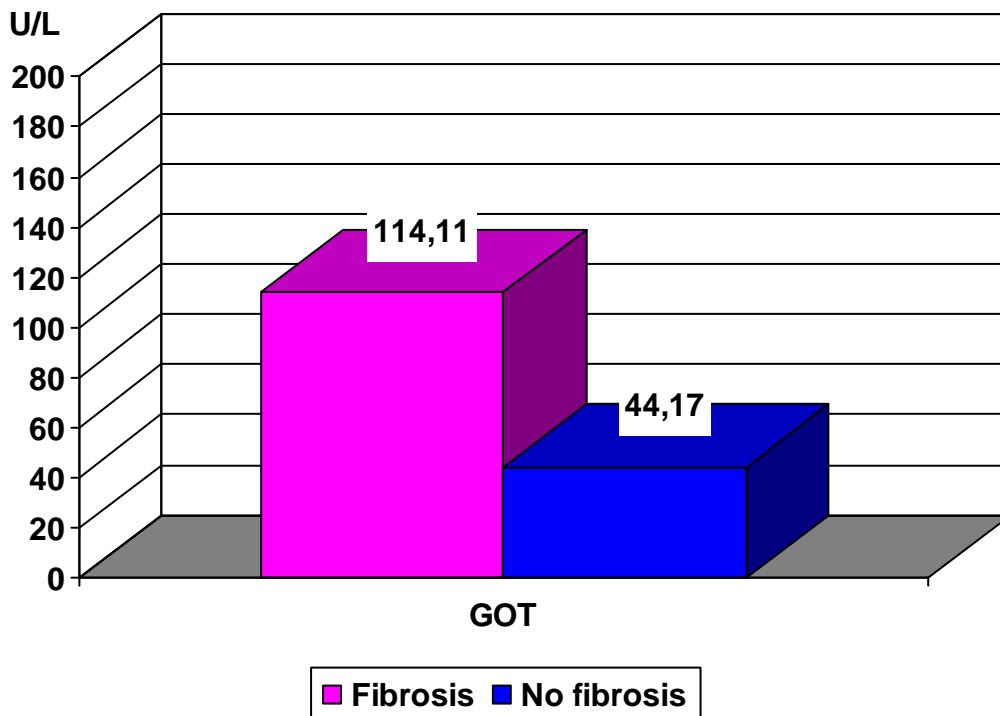


Figura 60. Valor medio de GOT según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- GPT: El valor medio de GPT en el grupo de pacientes fibróticos ($124,59 \pm 99,888$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes no fibróticos ($64,68 \pm 45,039$); $p < 0,0001$. (Figura 61).

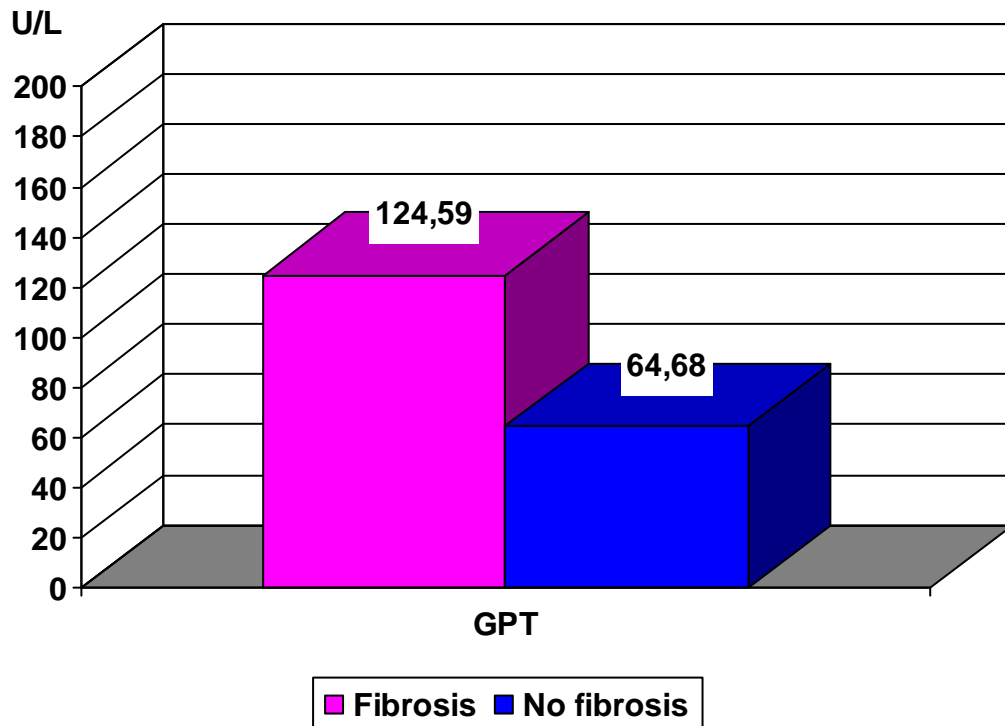


Figura 61. Valor medio de GPT según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- GGT: El valor medio de GGT en el grupo de pacientes fibróticos ($146,28 \pm 145,945$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes no fibróticos ($75,79 \pm 91,106$); $p < 0,0001$. (Figura 62).

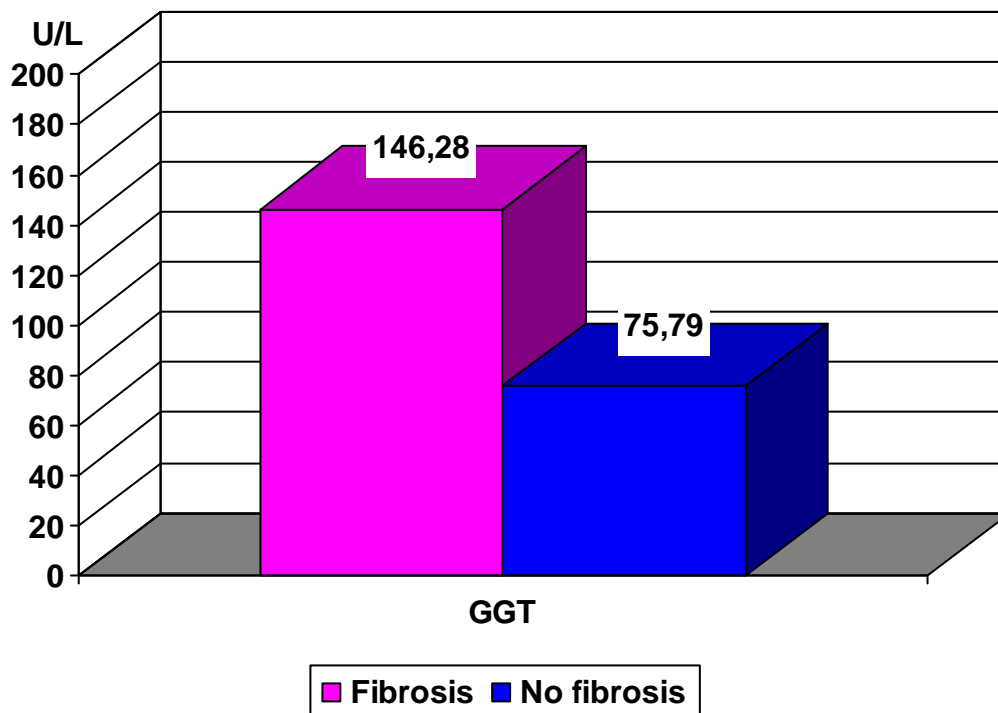


Figura 62. Valor medio de GGT según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Fosfatasa alcalina: El valor medio en el grupo de pacientes fibróticos ($117,64 \pm 53,575$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes no fibróticos ($81,54 \pm 27,942$); $p < 0,0001$. (Figura 63).

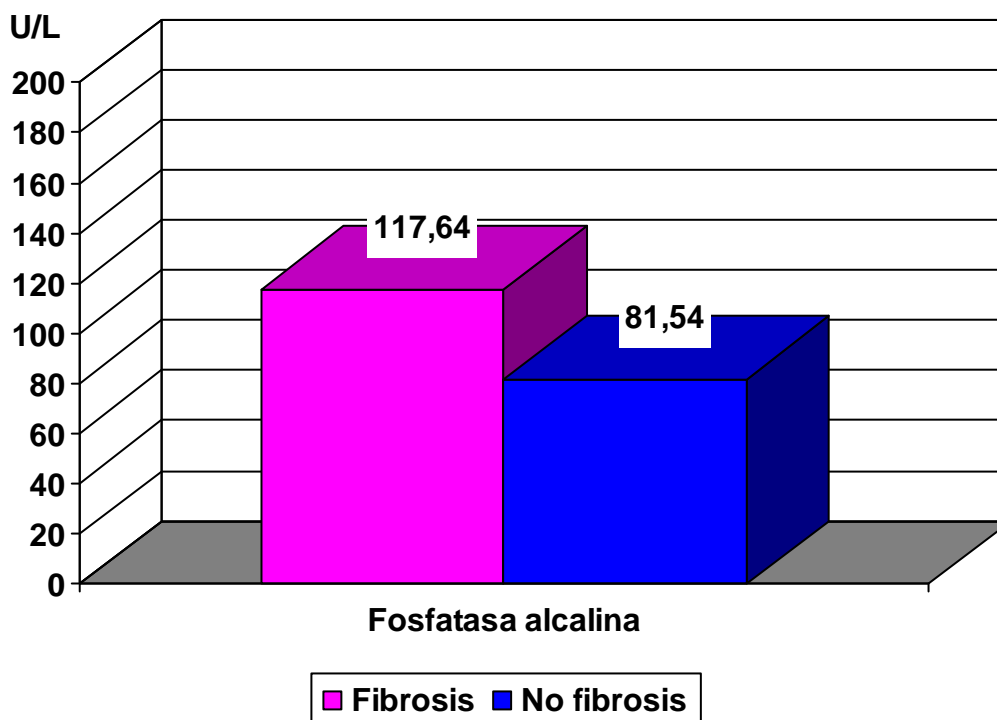


Figura 63. Valor medio de fosfatasa alcalina según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- LDH: Se observaron valores significativamente superiores en el grupo de pacientes fibróticos ($440,17 \pm 118,614$ vs $382,84 \pm 76,707$); $p < 0,0001$. (Figura 64).

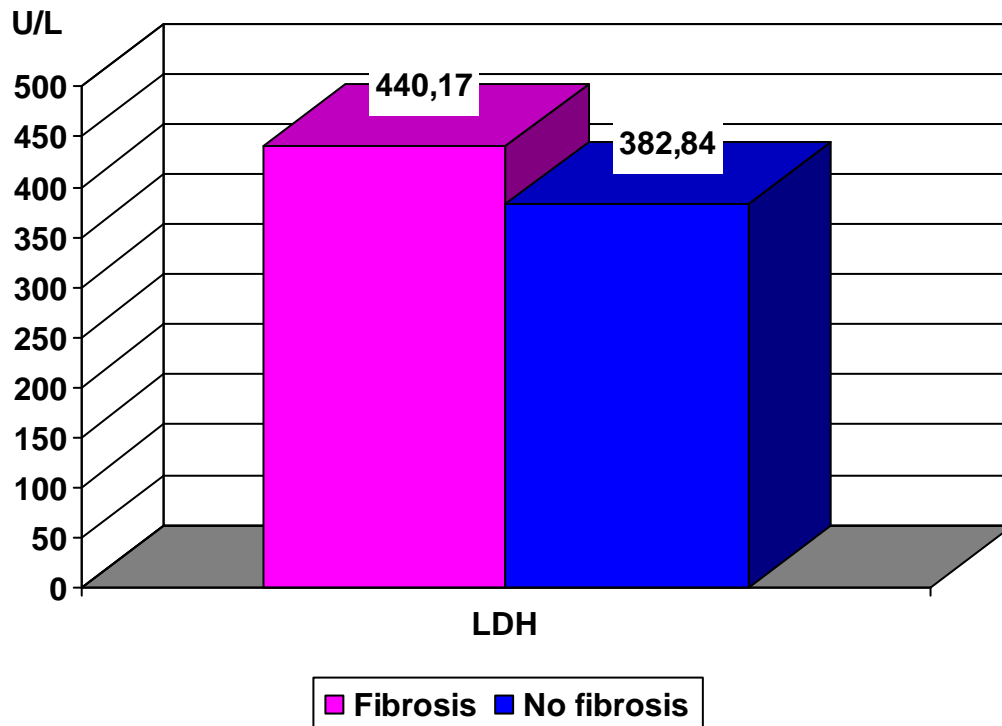


Figura 64. Valor medio de LDH según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Hierro: El valor medio en el grupo de pacientes con fibrosis ($129,48 \pm 71,365$) fue superior al del grupo de pacientes sin fibrosis ($111,79 \pm 50,572$); $p < 0,05$. (Figura 65).

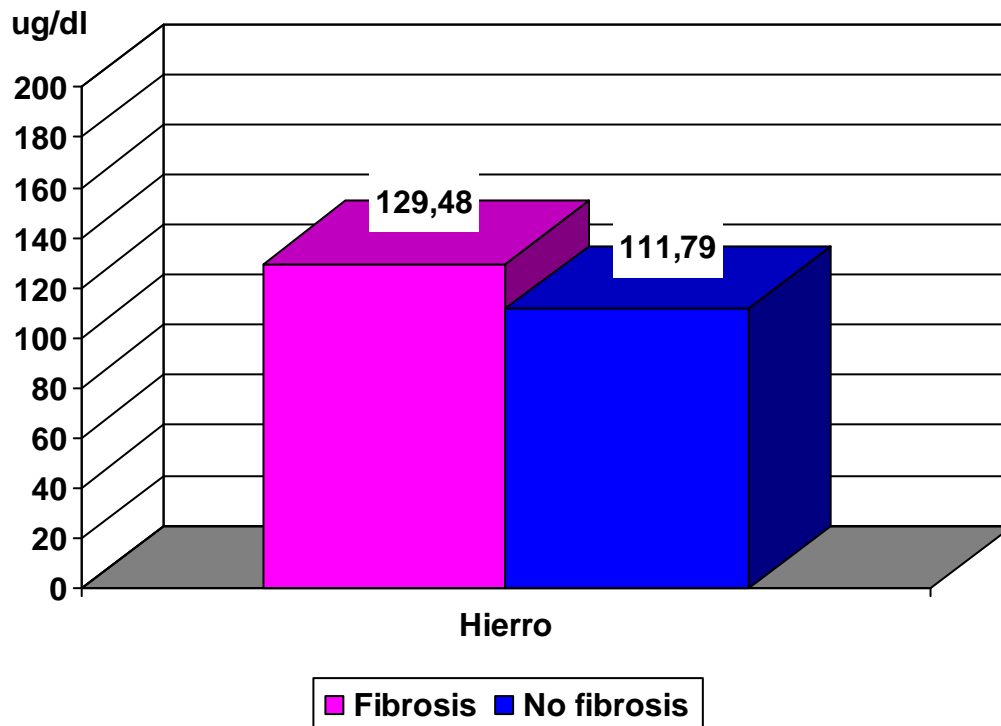


Figura 65. Valor medio de hierro según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- Ferritina: El valor medio en el grupo de pacientes con fibrosis ($340,83 \pm 344,00$) fue superior al del grupo de pacientes sin fibrosis ($202,09 \pm 221,441$); $p < 0,05$. (Figura 66).

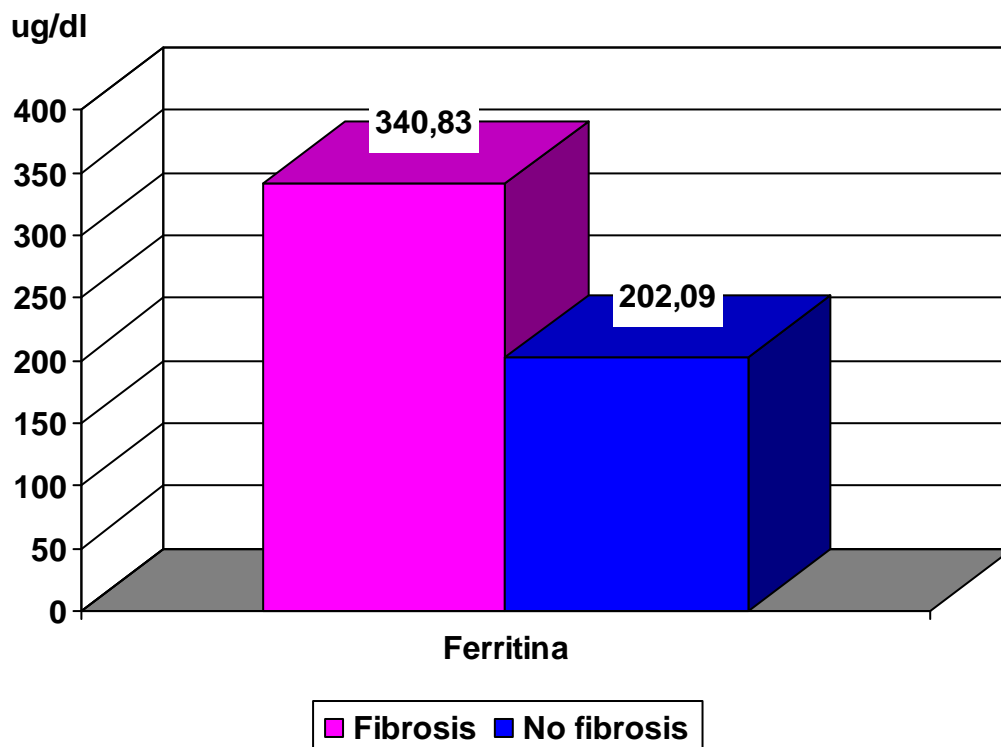


Figura 66. Valor medio ferritina según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- Proteínas totales: No se encontraron diferencias significativas al comparar las proteínas totales en los dos grupos.
- Albúmina: Los valores de albúmina están elevados de forma significativa en el grupo de pacientes no fibróticos ($4,25 \pm 0,379$ vs $3,76 \pm 0,602$); $p < 0,0001$. (Figura 67).

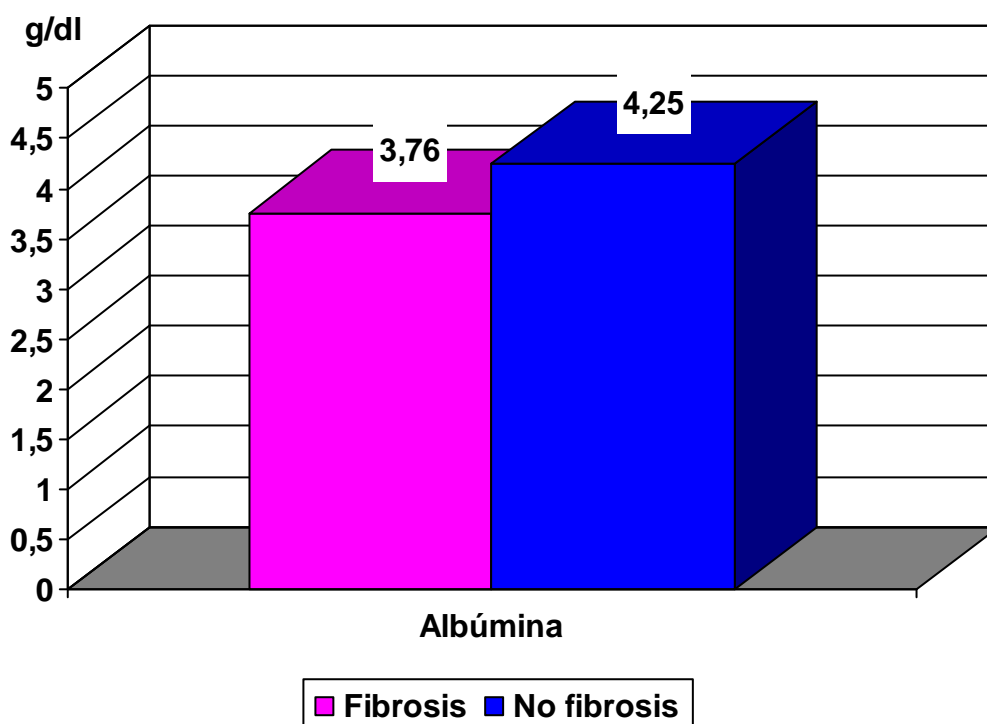


Figura 67. Valor medio de albúmina según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,001$.

- Alfetoproteína: No se encontraron diferencias significativas al comparar los dos grupos.
- RNA PCR: El valor medio de carga viral en el grupo de pacientes no fibróticos ($4402302,84 \pm 5202316,804$) fue superior al del grupo de pacientes fibróticos ($3124153,25 \pm 3798401,644$); $p < 0,05$. (Figura 68).

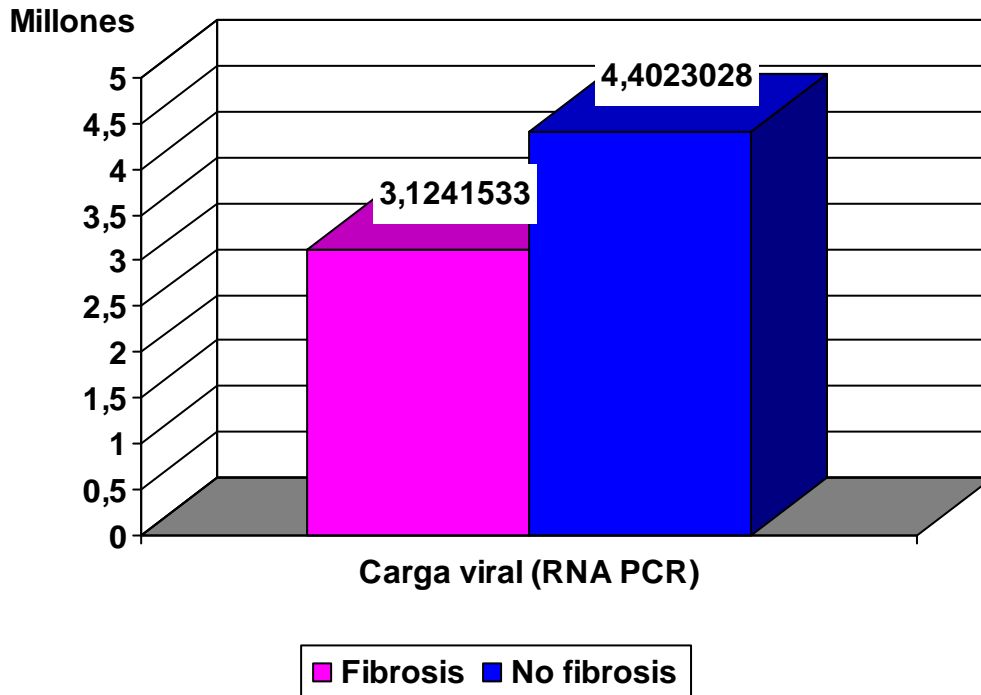


Figura 68. Carga viral media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- Hemoglobina: Los valores de hemoglobina media fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes no fibróticos ($14,87 \pm 1,751$) con respecto a aquellos pacientes fibróticos ($14,12 \pm 2,125$); $p < 0,0001$. (Figura 69).

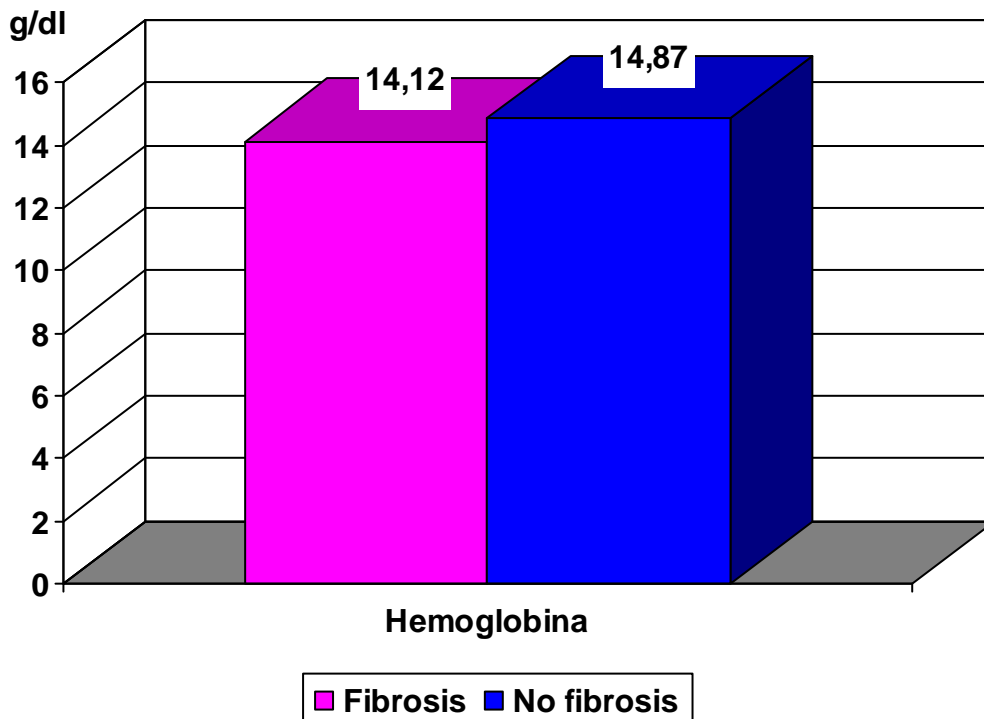


Figura 69. Hemoglobina media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa.

- Hematocrito: El valor medio de hematocrito fue significativamente superior en el grupo de pacientes sin fibrosis ($44,04 \pm 4,933$) con respecto a aquellos pacientes con fibrosis ($42,34 \pm 5,667$); $p < 0.05$. (Figura 70).

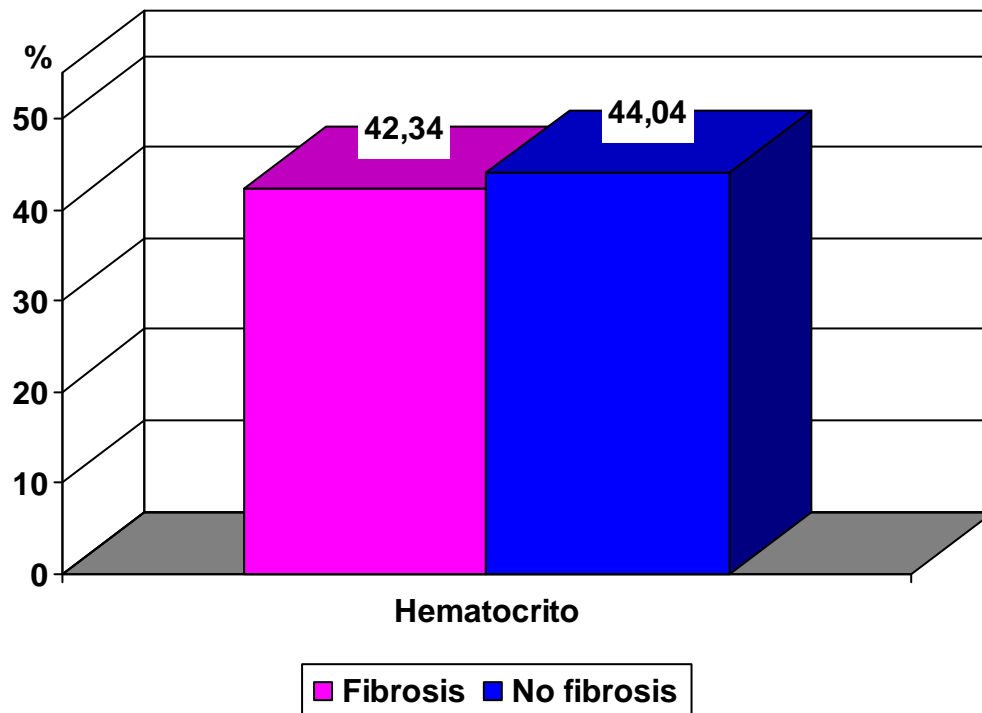


Figura 70. Valor medio de hematocrito según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- VCM: Los valores de VCM fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con fibrosis ($93,33 \pm 10,060$) con respecto a aquellos pacientes no fibróticos ($89,24 \pm 6,744$); $p < 0.0001$. (Figura 71).

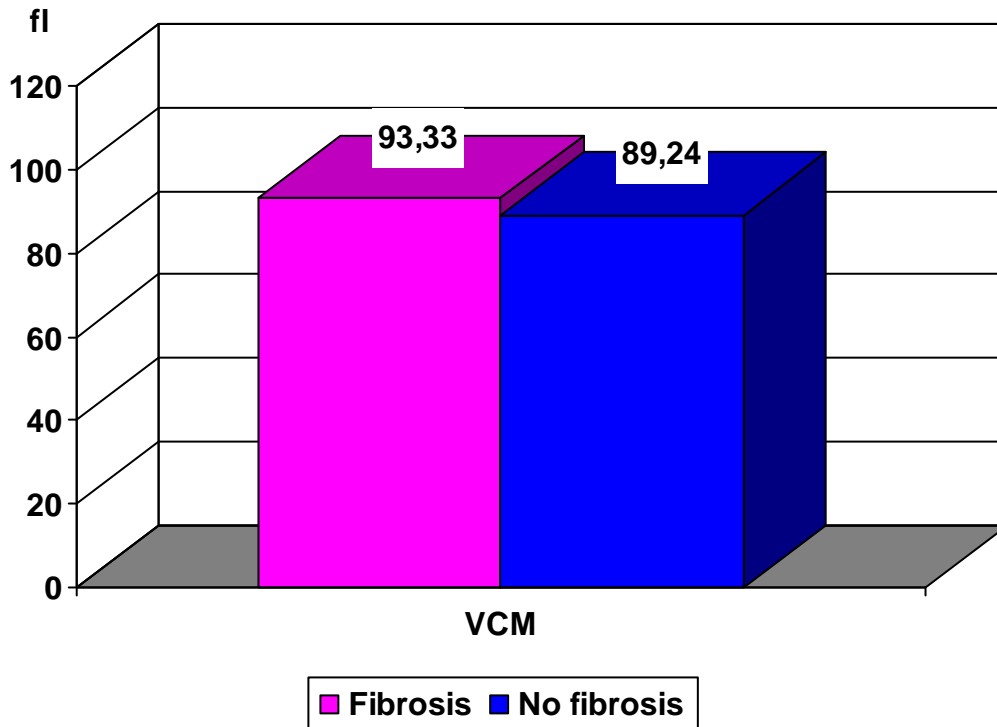


Figura 71. VCM medio según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- HCM: Los valores de HCM fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con fibrosis ($31,08 \pm 3,654$) con respecto a aquellos pacientes no fibróticos ($30,13 \pm 2,444$); $p < 0,05$. (Figura 72).

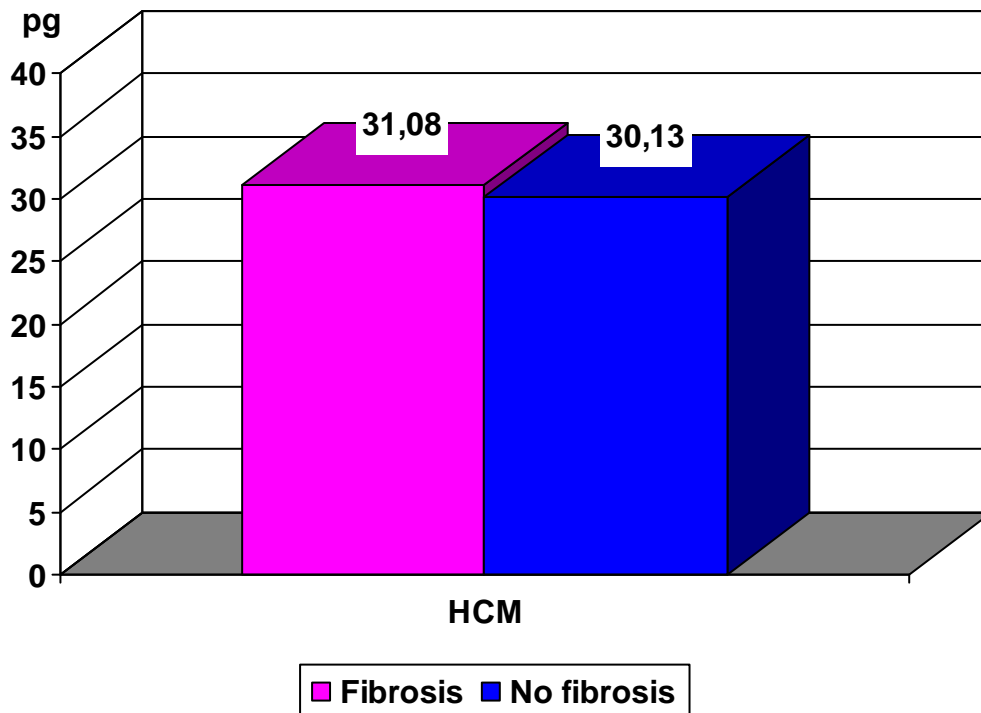


Figura 72. HCM medio según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,05$.

- Leucocitos: El valor medio de leucocitos en el grupo de pacientes sin fibrosis ($6921,12 \pm 2439,039$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes con fibrosis ($5265,86 \pm 1956,056$); $p < 0,0001$. (Figura 73).

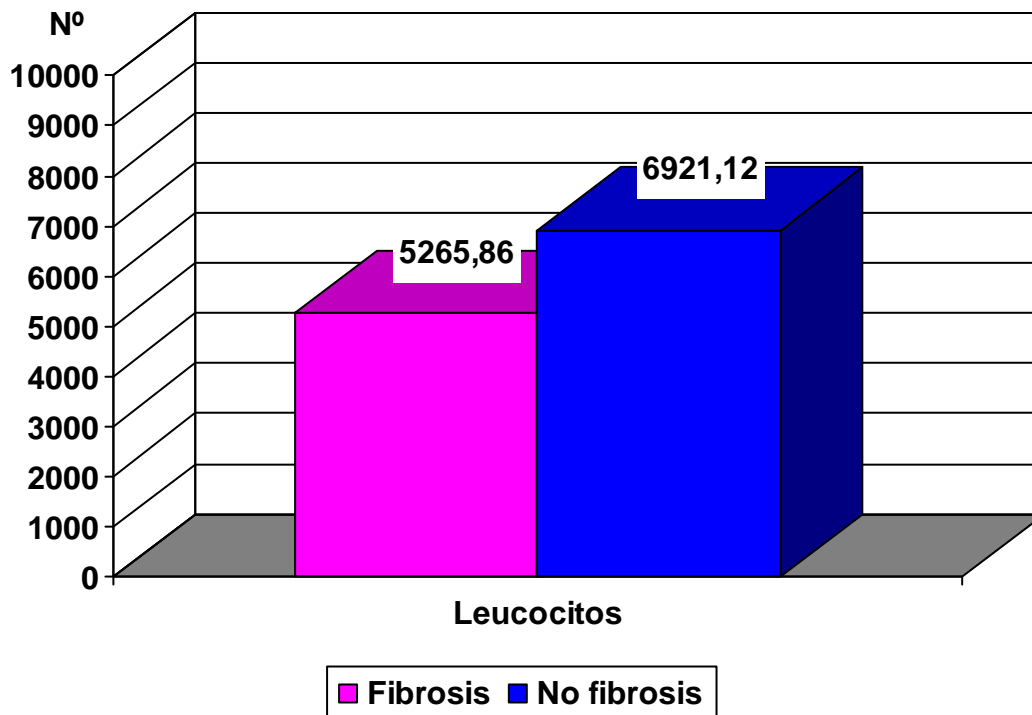


Figura 73. Valor medio de leucocitos según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Plaquetas: El valor medio de plaquetas en el grupo de pacientes sin fibrosis ($238140,19 \pm 72458,432$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes con fibrosis ($124353,38 \pm 50821,612$); $p < 0,0001$. (Figura 74).

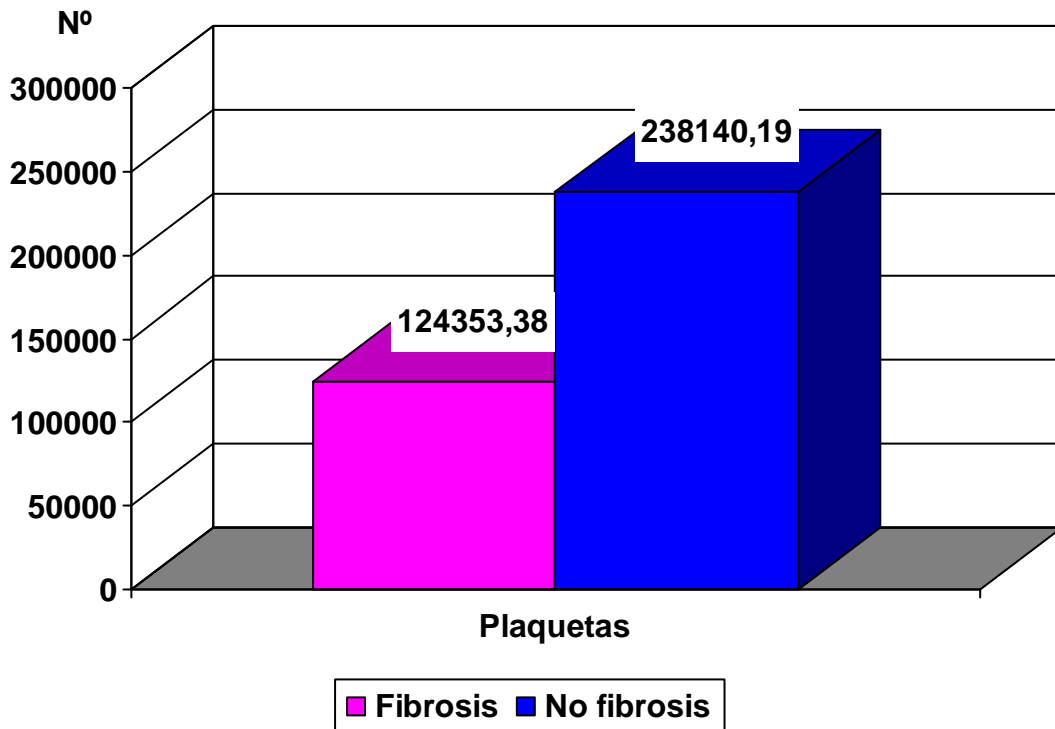


Figura 74. Valor medio de plaquetas según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- Tiempo de protrombina: El valor medio de tiempo de protrombina en el grupo de pacientes con fibrosis ($13,88 \pm 3,339$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes sin fibrosis ($11,81 \pm 0,938$); $p < 0,0001$. (Figura 75).

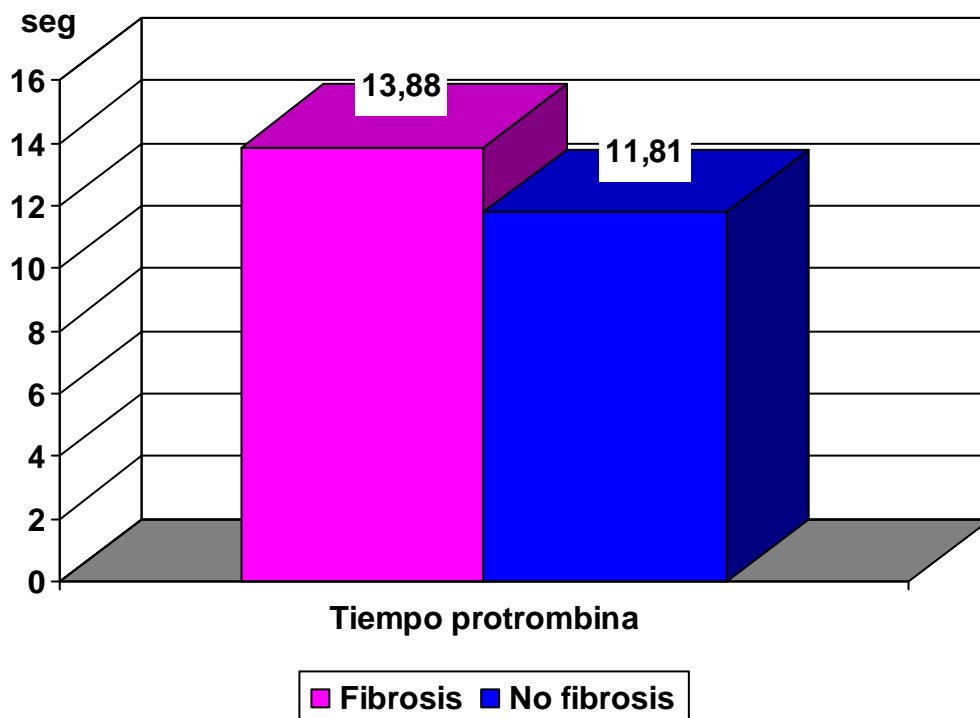


Figura 75. Tiempo de protrombina medio según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,001$.

- Actividad de protrombina: El valor medio de actividad de protrombina en el grupo de pacientes no fibróticos ($103,31 \pm 10,323$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes con fibrosis ($85,22 \pm 19,309$); $p < 0,0001$. (Figura 76).

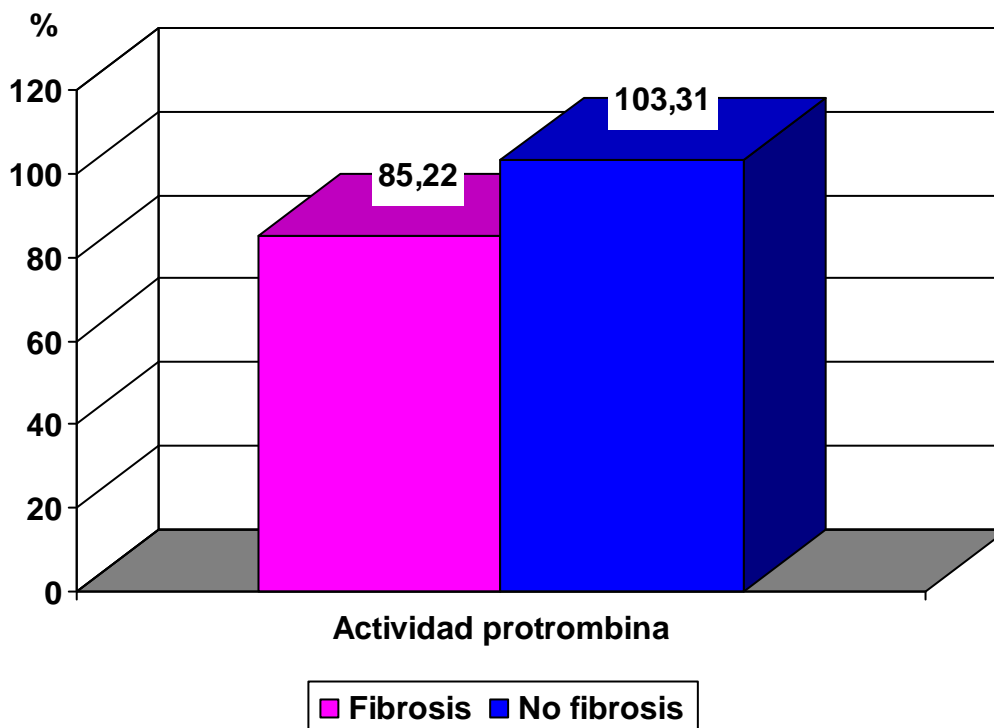


Figura 76. Actividad de protrombina media según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LAS VARIABLES ASOCIADAS AL DESARROLLO FIBROSIS SIGNIFICATIVA.

Con el fin de controlar el efecto de terceras variables que pudieran enmascarar la relación con la fibrosis hepática hemos realizado un análisis multivariante, mediante el método de regresión logística binaria, considerando la fibrosis como variable dependiente. Modelo realizado con la pérdida de 43 pacientes, obteniendo una tasa de correcta clasificación de 99,1%. P para la prueba de Hosmer-Lemeshow de 0,98. En dicho análisis encontramos como variables independientes (predictoras) para el desarrollo de fibrosis hepática el incremento en la edad y el nivel de GOT. (Tabla 65 y 66).

VARIABLE	B	Significación (p)	OR	I.C 95% para OR	
				Inferior	Superior
Edad	0,188	0,001	1,206	1,084	1,342
GOT	0,15	0,001	1,162	1,077	1,254
Constante	-0,885	0,761	0,413		

Tabla 65. Estudio multivariante, realizado para evaluar la probabilidad de desarrollo fibrosis. Tasa de correcta clasificación: 99,1 %. Estadístico de Hosmer-Lemeshow: 0,98. Casos perdidos: 43.

B: Parámetro estimado.
Significación (p): significación estadística global del modelo.

		fibrosisreco = 1,00		fibrosisreco = 2,00		Total
		Observado	Esperado	Observado	Esperado	
Paso 2	1	35	34,721	0	0,279	35
	2	34	34,138	1	0,862	35
	3	33	33,230	2	1,770	35
	4	30	32,145	5	2,855	35
	5	30	29,819	5	5,181	35
	6	29	24,415	6	10,585	35
	7	13	15,699	22	19,301	35
	8	8	7,867	27	27,133	35
	9	2	1,896	33	33,104	35
	10	0	0,070	32	31,930	32

Tabla 66. Tabla de contingencias para la prueba de Hosmer y Lemeshow.

CURVA ROC PARA LA FIBROSIS HEPÁTICA.

No permite discriminar en el caso de fibrosis hepática.

DESARROLLO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaban cirrosis hepática y aquellos que no la presentaron, incluyendo variables cualitativas, encontrando diferencias significativas solamente con el grado de fibrosis con un nivel de significación menor de 0,05.

SEXO.

Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo, cuando comparamos al grupo de pacientes cirróticos y no cirróticos. (Tabla 67 y figura 77).

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
SEXO, Nº (%)			0,383 (NS)
VARÓN	204 (54,1%)	45 (11,9%)	
MUJER	110 (29,2 %)	18 (4,8%)	

Tabla 67. Diferencias de frecuencia de varones y mujeres en pacientes con y sin cirrosis hepática.

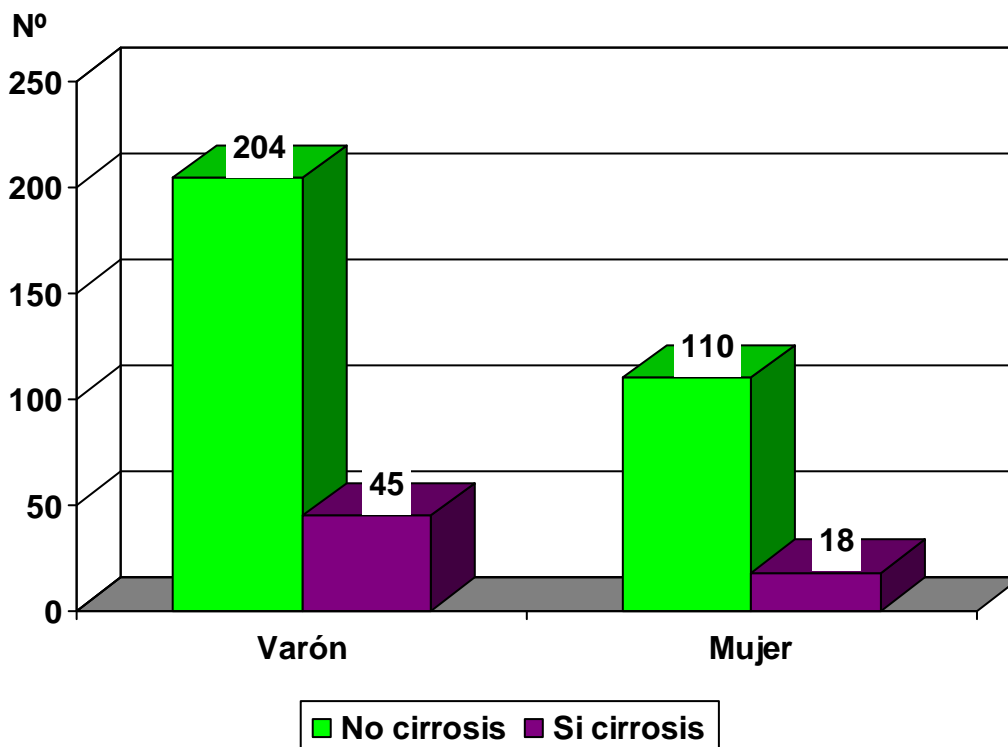


Figura 77. Diferencias de frecuencia de varones y mujeres en pacientes con y sin cirrosis hepática; NS.

GENOTIPO.

No se encontraron diferencias significativas en cuanto al genotipo, cuando comparamos al grupo de pacientes cirróticos y no cirróticos, cuando empleamos *el test de Chi-cuadrado de Pearson*. (Tabla 68 y figura 78)

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			
GEN 1	157(55,9%)	40(14,2%)	0,896 (NS)
GEN 2	4(1,4%)	1(0,4%)	
GEN 3	38(13,5%)	8(2,8%)	
GEN 4	28(10,0%)	5(1,8%)	

Tabla 68. Diferencias de frecuencia de diferentes genotipos en pacientes con y sin cirrosis hepática.

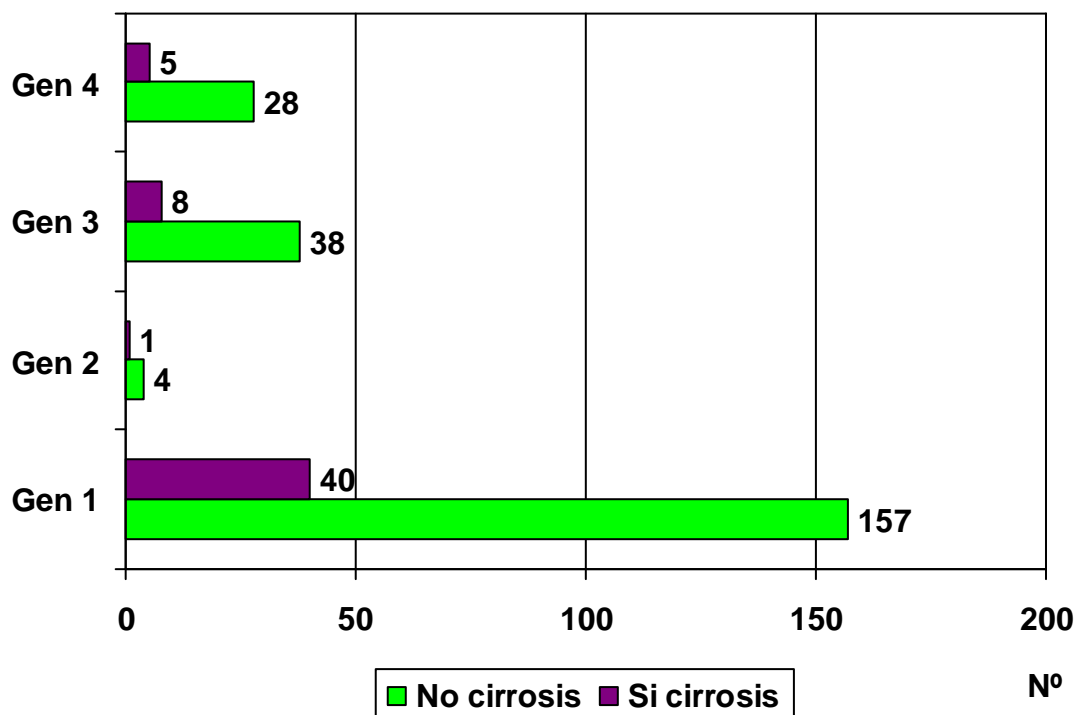


Figura 78. Diferencias de frecuencia de diferentes genotipos en pacientes con y sin cirrosis hepática; NS.

Dado que no se han encontrado diferencias significativas en cuanto al genotipo, probablemente por el escaso número de pacientes con algunos de ellos, hemos procedido a categorizar esta variable en genotipo 1 y genotipo diferente de 1. Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher* tampoco se encontraron diferencias significativas. (Tabla 69 y figura 79).

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			
GEN 1	157 (55,9%)	40 (14,2%)	0,513 (NS)
GEN DIFERENTE 1	70 (24,9%)	14 (5%)	

Tabla 69. Diferencias de frecuencia de genotipo 1 y diferente 1 en pacientes con y sin cirrosis hepática.

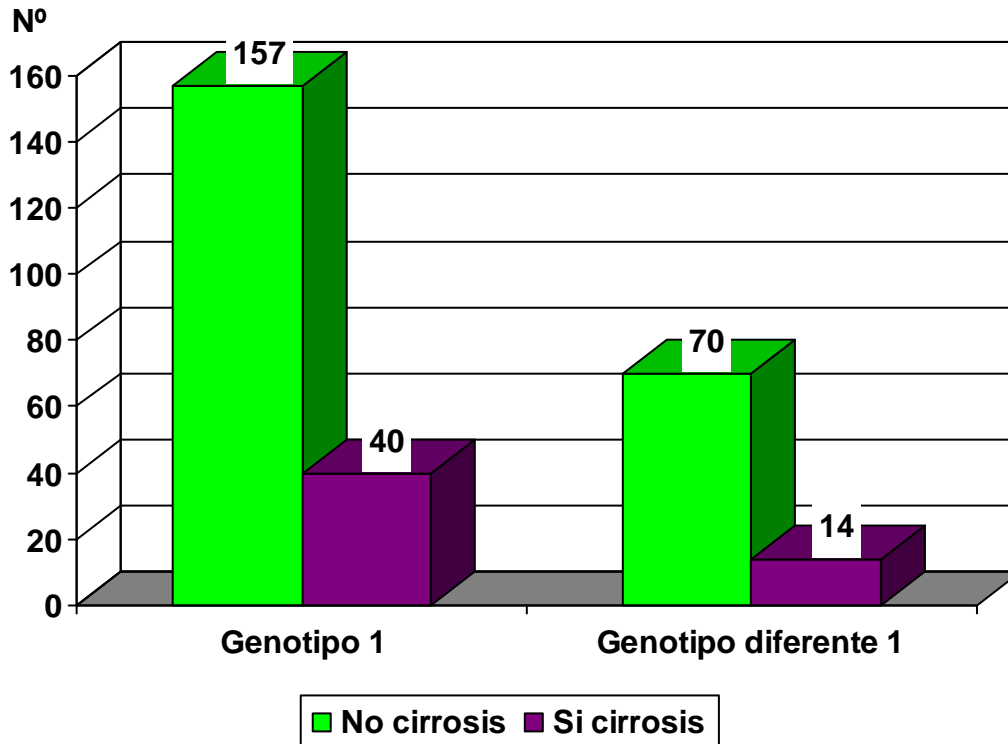


Figura 79. Diferencias de frecuencia de genotipo 1 y diferente 1 en pacientes con y sin cirrosis hepática; NS.

FIBROSIS TOTAL.

Con respecto a la fibrosis total si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, para ello hemos recodificado la variable fibrosis total considerando los pacientes con fibrosis no clasificada como valores perdidos. (Tabla 70 y figura 80)

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
FIBROSIS HEPÁTICA			0,0001
NO FIBROSIS	214 (61,7%)	0 (0%)	
SI FIBROSIS	70 (20,2%)	63 (18,2%)	

Tabla 70. Diferencias de frecuencia de fibrosis si o no en pacientes con y sin cirrosis hepática.

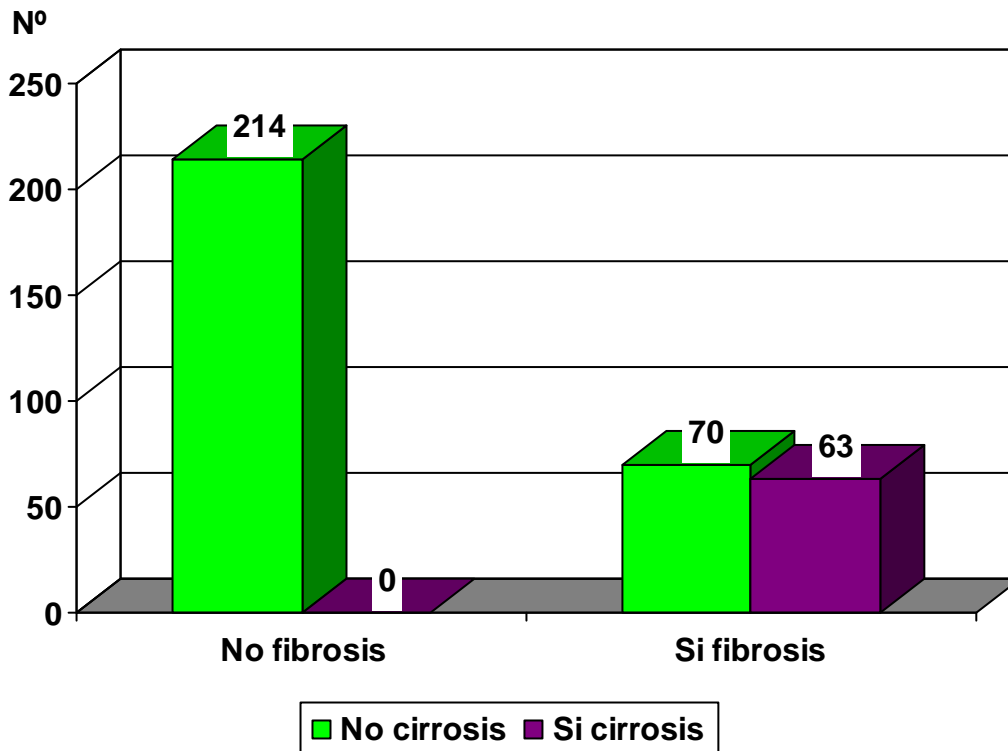


Figura 80. Diferencias de frecuencia de fibrosis si o no en pacientes con y sin cirrosis hepática; $p < 0,0001$.

HEPATOCARCINOMA.

Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al hepatocarcinoma, cuando comparamos al grupo de pacientes cirróticos y no cirróticos. (Tabla 71 y figura 81).

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
HEPATOCARCINOMA, Nº (%)			
NO HEPATOCARCINOMA	313 (83,0%)	53 (14,1%)	0,0001
SI HEPATOCARCINOMA	1 (0,3 %)	10 (2,7%)	

Tabla 71. Diferencias de frecuencia de hepatocarcinoma en pacientes con y sin cirrosis hepática.

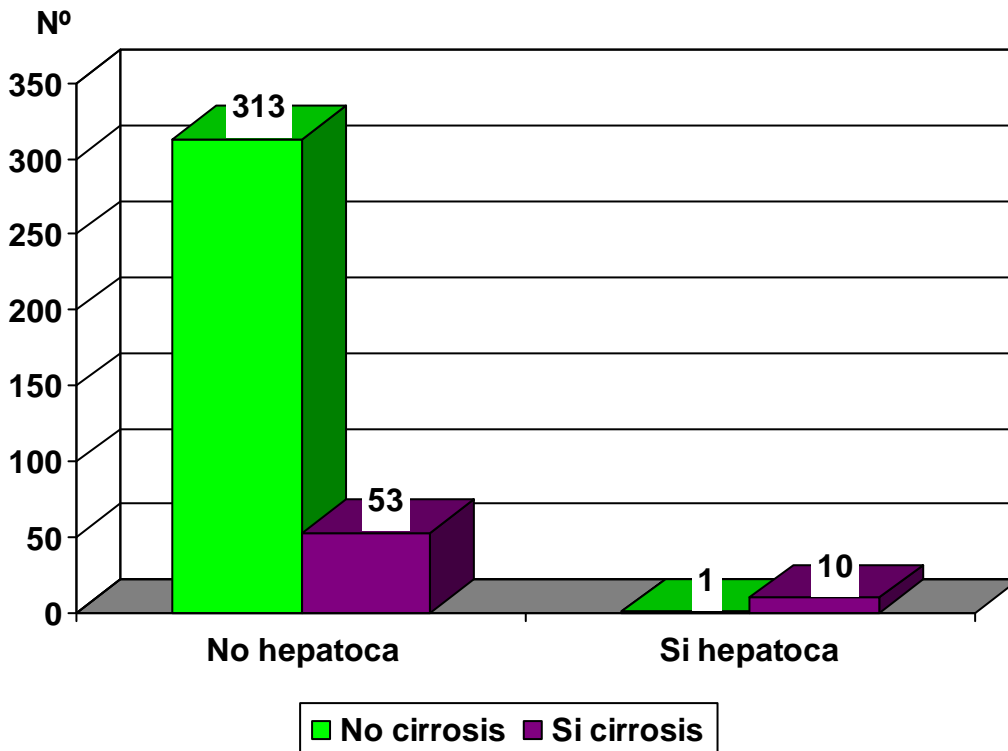


Figura 81. Diferencias de frecuencia de hepatocarcinoma en pacientes con y sin cirrosis hepática; $p < 0,0001$.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 1 (< O > 500,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 500.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, cuando comparamos los pacientes con y sin cirrosis hepática, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 72 y figura 82).

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 1, Nº (%)			0,454 (NS)
CARGA VIRAL BAJA	93 (24,7%)	22 (5,8%)	
CARGA VIRAL ALTA	221 (58,6 %)	41 (10,9 %)	

Tabla 72. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin cirrosis hepática.

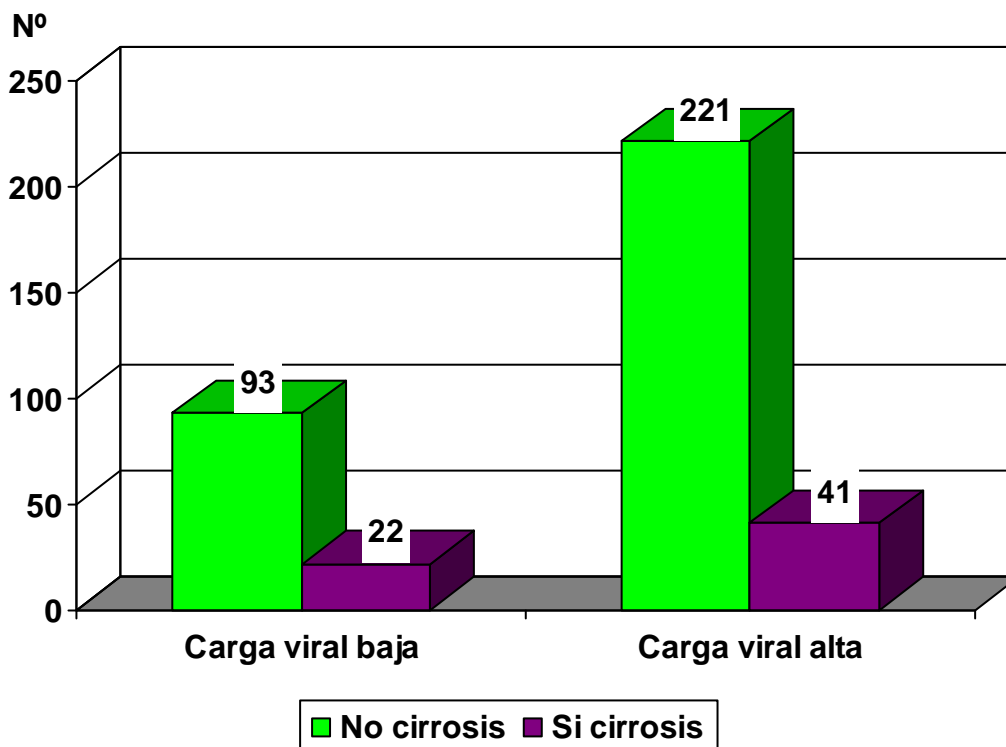


Figura 82. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin cirrosis hepática; NS.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 2 (< 0 > 300,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 300.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, cuando comparamos los pacientes con y sin cirrosis hepática, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 73 y figura 83).

VARIABLES CUALITATIVAS	CIRROSIS HEPÁTICA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 2, Nº (%)			0,517(NS)
CARGA VIRAL BAJA	72 (19,1%)	17 (4,5%)	
CARGA VIRAL ALTA	242 (64,2 %)	46 (12,2 %)	

Tabla 73. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin cirrosis hepática.

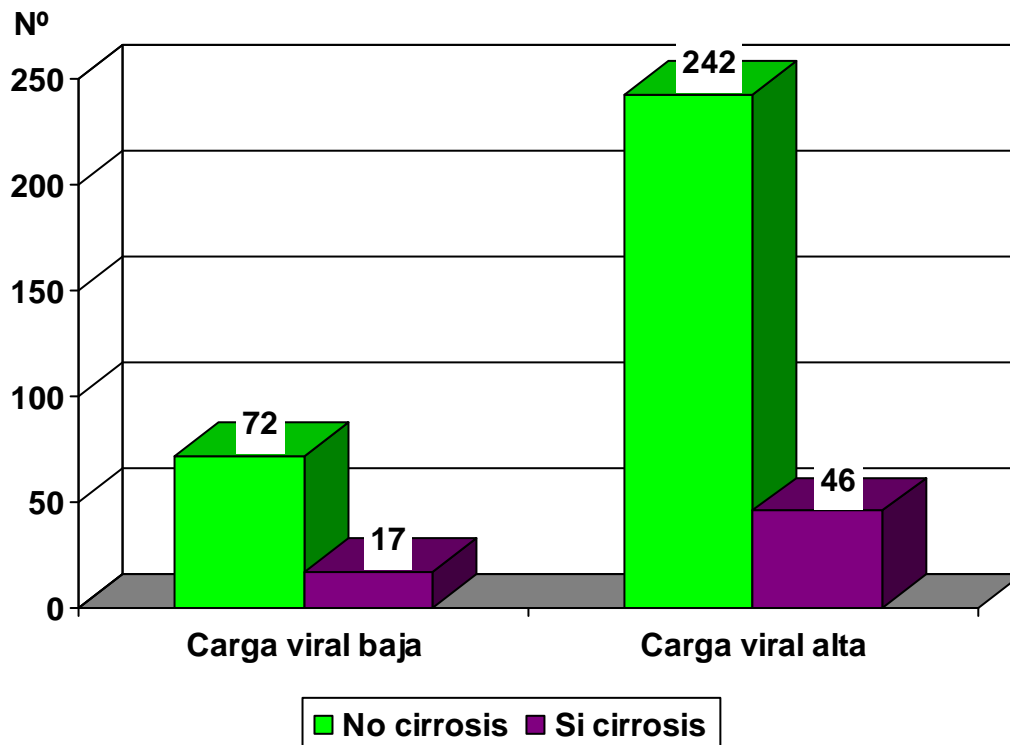


Figura 83. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin cirrosis hepática; NS.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaban cirrosis hepática y aquellos que no la presentaron incluyendo variables cuantitativas. Se observaron diferencias significativas en cuanto a edad, glucosa, colesterol, bilirrubina total, GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, LDH, albúmina, AFP, carga viral, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, plaquetas, tiempo y actividad de protrombina, con un nivel de significación inferior a 0,05. (Tabla 74).

VARIABLE	NO CIRROSIS (N=314)	CIRROSIS (N=63)	p(significación)
media±desviación típica			
Edad	48,90±12,972	58,56±13,977	0,0001
Glucosa mg/dl	102,25±28,314	115,89±44,786	0,023
Urea mg/dl	36,15±25,666	38,60±25,961	0,49 (NS)
Crea mg/dl	1,24±1,462	1,32±1,720	0,712 (NS)
Ácido úrico mg/dl	5,18±1,432	5,29±1,582	0,579 (NS)
Colesterol mg/dl	176,62±36,785	158,82±50,620	0,011
Triglicéridos mg/dl	117,99±88,851	101,16±54,044	0,154 (NS)
Bilirrubina total mg/dl	0,87±0,626	1,97±1,702	0,0001
GOT U/L	61,80±49,592	113,08±83,933	0,0001
GPT U/L	83,62±74,548	106,49±79,265	0,029
GGT U/L	97,80±111,172	135,67±144,010	0,02
Fosfatasa alcalina U/L	87,68±34,734	130,92±61,195	0,0001
LDH U/L	396,36±84,961	448,65±142,801	0,0001
Hierro ug/dl	118,81±57,909	113,80±64,566	0,545 (NS)
Ferritina ug/dl	266,56±285,193	180,16±218,913	0,246 (NS)
Proteínas totales g/dl	7,63±0,563	7,47±0,727	0,124 (NS)
Albúmina g/dl	4,17±0,400	3,48±0,633	0,0001
AFP ng/ml	12,21±83,743	646,12±2567,436	0,0001
RNA PCR UI/ml	4446624,55±6190760,147	2666968,85±3588406,525	0,002
Hemoglobina g/dl	14,83±1,714	13,52±2,455	0,0001
Hematocrito %	43,99±4,785	40,76±6,491	0,0001
VCM fl	90,40±7,616	92,84±10,584	0,085 (NS)
HCM pg	30,46±2,709	30,72±3,905	0,622 (NS)
Leucocitos x10 ⁹ /L	6489,87±2307,956	5108,25±2343,253	0,0001
Plaquetas	210270,70±77887,975	108555,56±50923,022	0,0001
Tiempo protrombina seg	12,13±2,022	14,73±2,529	0,0001
Actividad de protrombina %	100,83±12,153	75,33±19,065	0,0001

Tabla 74: Valores analíticos medios según los pacientes presenten o no cirrosis en el análisis univariante.

- Edad: La edad media en el grupo de pacientes cirróticos (58,56±13,977) fue significativamente superior al del grupo de pacientes no cirróticos (48,90±12,972); p<0,0001. (Figura 84).

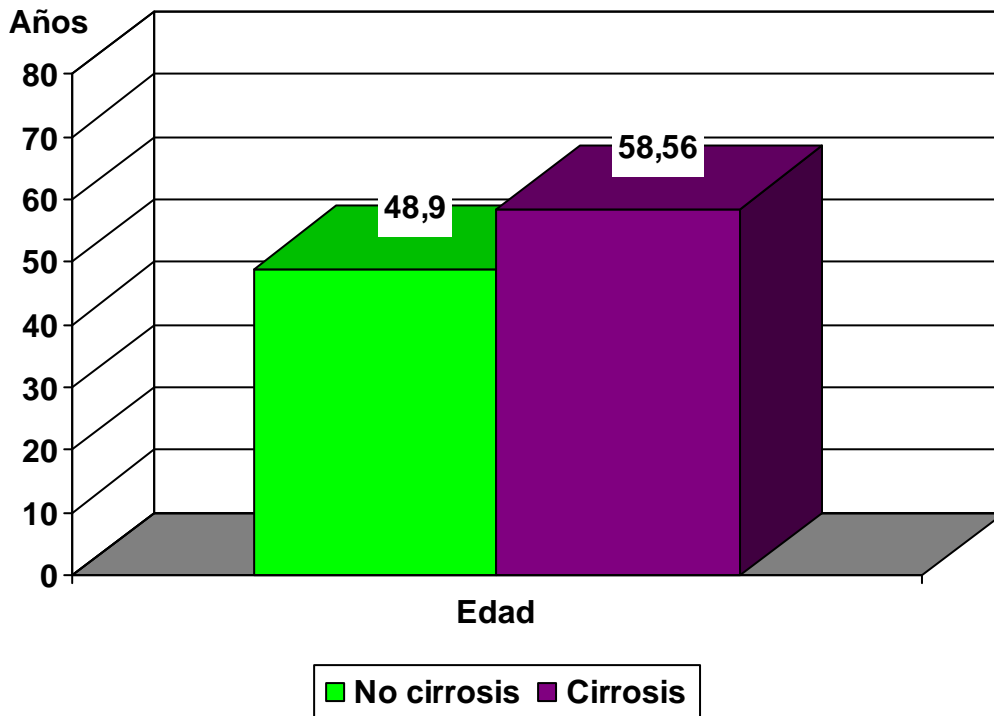


Figura 84. Edad media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Glucosa: El valor medio de glucosa en el grupo de pacientes cirróticos ($115,89 \pm 44,786$) fue superior al del grupo de pacientes no cirróticos ($102,25 \pm 28,314$); $p < 0,05$. (Figura 85).

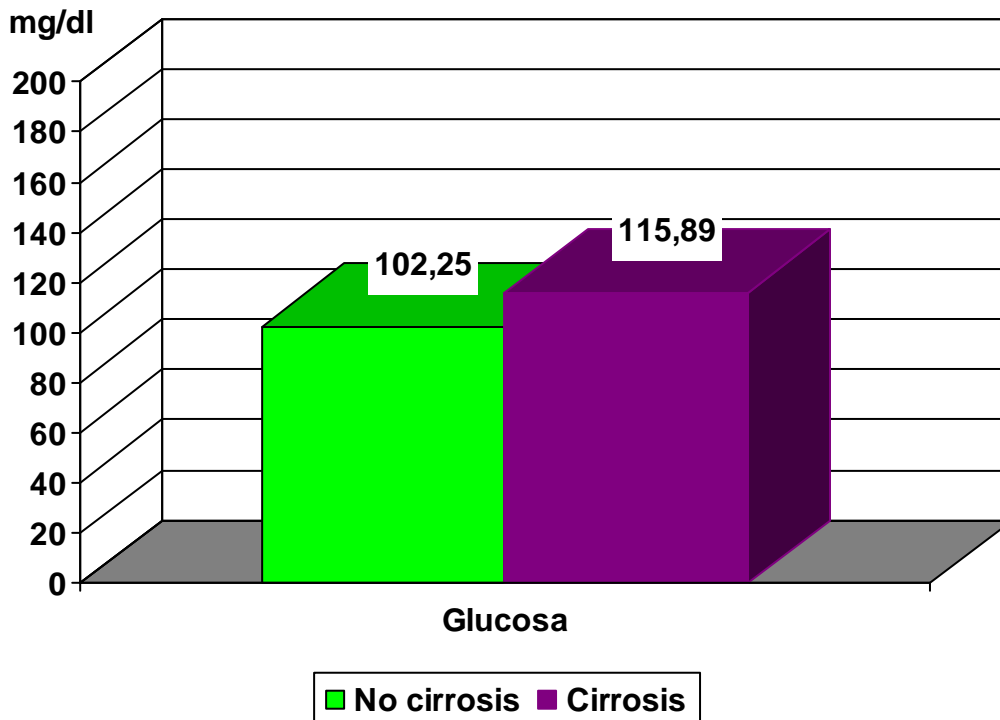


Figura 85. Glucosa media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,05$.

- Urea: No se observaron diferencias significativas en los niveles de urea al comparar al grupo de pacientes con cirrosis hepática con los no cirróticos.
- Creatinina: No se observaron diferencias significativas en los niveles de creatinina al comparar al grupo de pacientes con cirrosis hepática con los pacientes no cirróticos.
- Ácido úrico: No se observaron diferencias significativas en los niveles de ácido úrico al comparar al grupo de pacientes con cirrosis hepática con los pacientes no cirróticos.
- Colesterol: El valor medio de colesterol fue superior en el grupo de pacientes no cirróticos ($176,62 \pm 36,785$) con respecto al grupo de cirróticos ($158,82 \pm 50,620$); $p < 0,05$. (Figura 86).

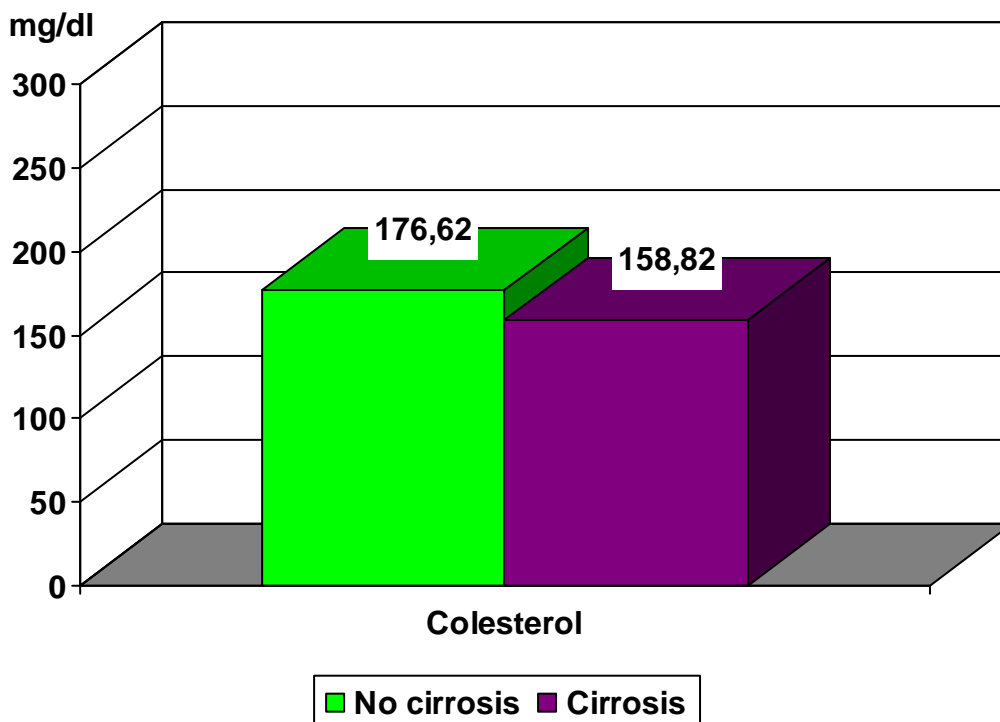


Figura 86. Valor medio de colesterol según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,05$.

- Triglicéridos: No se encontraron diferencias significativas en los valores de triglicéridos al comparar el grupo de pacientes cirróticos y no cirróticos.
- Bilirrubina total: Los valores de bilirrubina total media fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes cirróticos ($1,97 \pm 1,702$) con respecto a aquellos pacientes no cirróticos ($0,87 \pm 0,626$); $p < 0,0001$. (Figura 87).

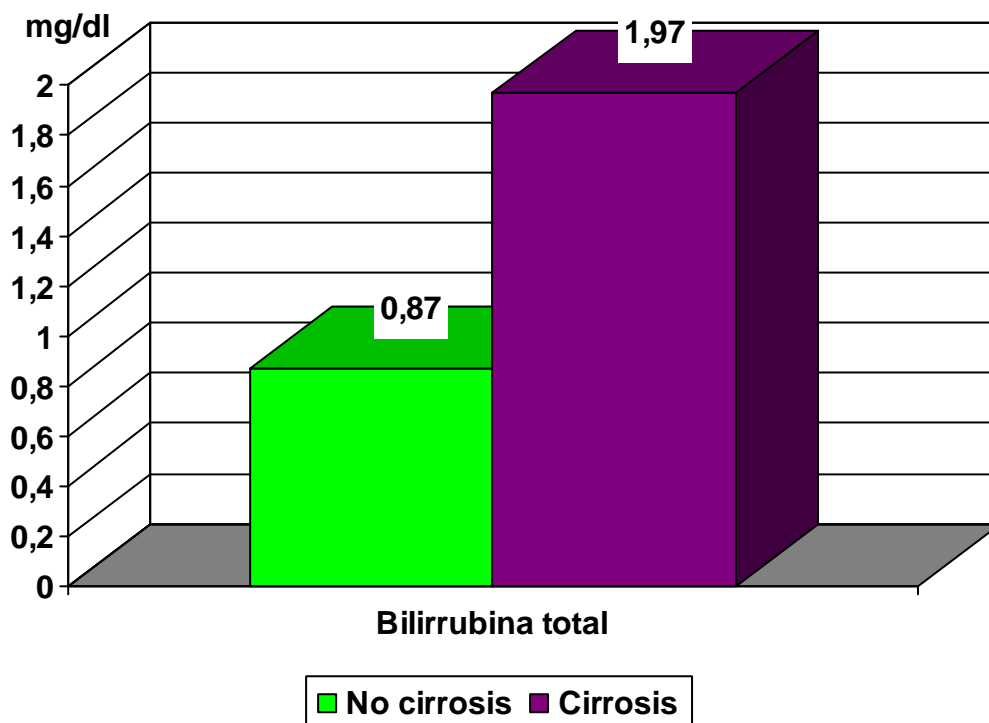


Figura 87. Bilirrubina total media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- GOT: Se apreciaron valores de GOT significativamente más elevados en los pacientes con cirrosis hepática ($113,08 \pm 83,933$ vs $61,80 \pm 49,592$); $p < 0,0001$. (Figura 88).

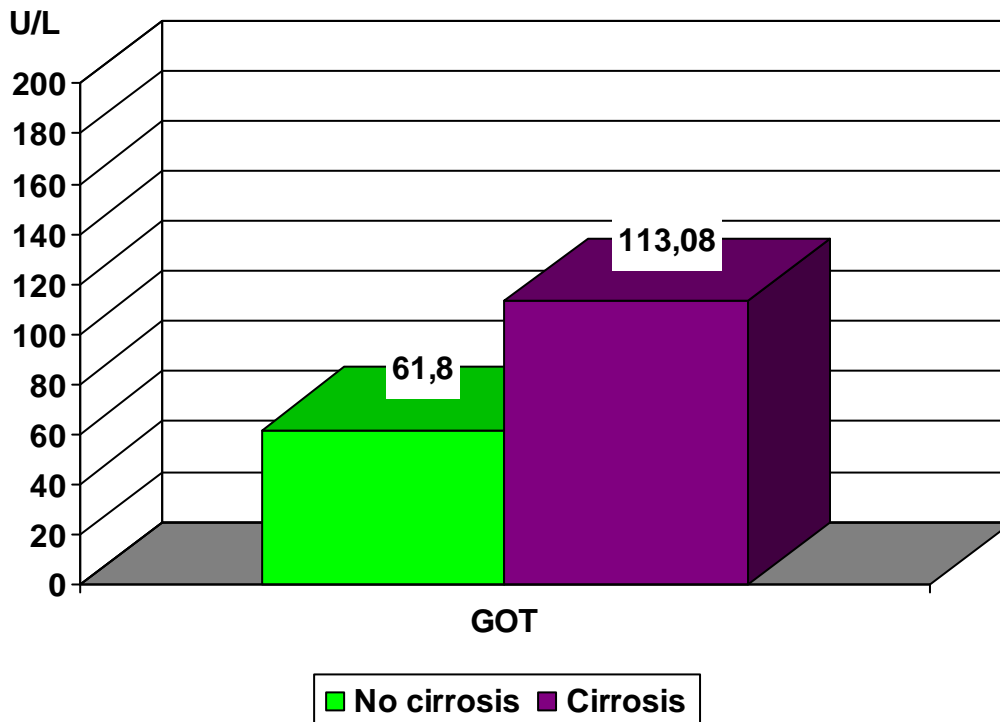


Figura 88. Valor medio de GOT según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- GPT: El valor medio de GPT en el grupo de pacientes cirróticos ($106,49 \pm 79,265$) fue superior al del grupo de pacientes no cirróticos ($83,62 \pm 74,548$); $p < 0,05$. (Figura 89).

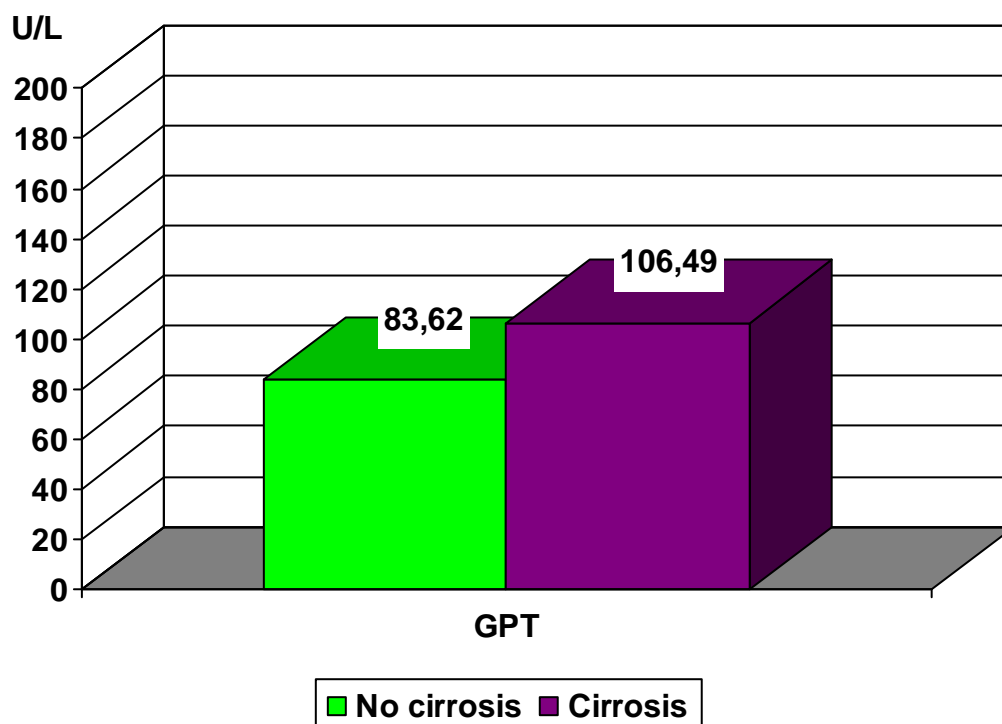


Figura 89. Valor medio de GPT según los pacientes presenten o no cirrosis.

- GGT: El valor medio de GGT en el grupo de pacientes cirróticos ($135,67 \pm 144,010$) fue superior al del grupo de pacientes no cirróticos ($97,80 \pm 111,172$); $p < 0,05$. (Figura 90).

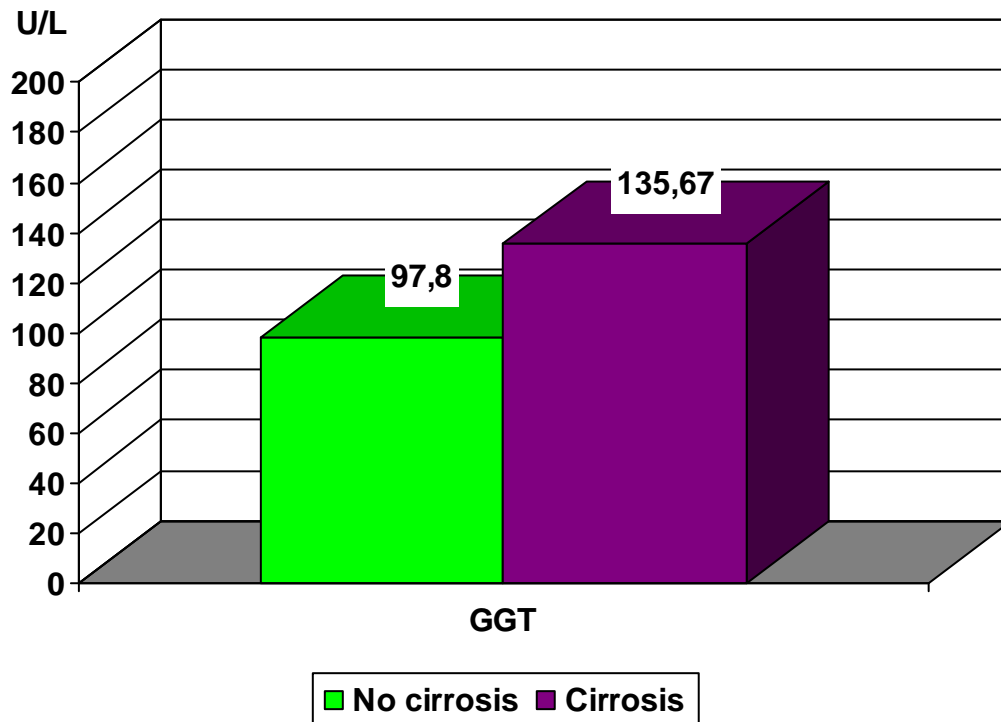


Figura 90. Valor medio de GGT según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,05$.

- Fosfatasa alcalina: El valor medio en el grupo de pacientes cirróticos ($130,92 \pm 61,195$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes no cirróticos ($87,68 \pm 34,734$); $p < 0,0001$. (Figura 91).

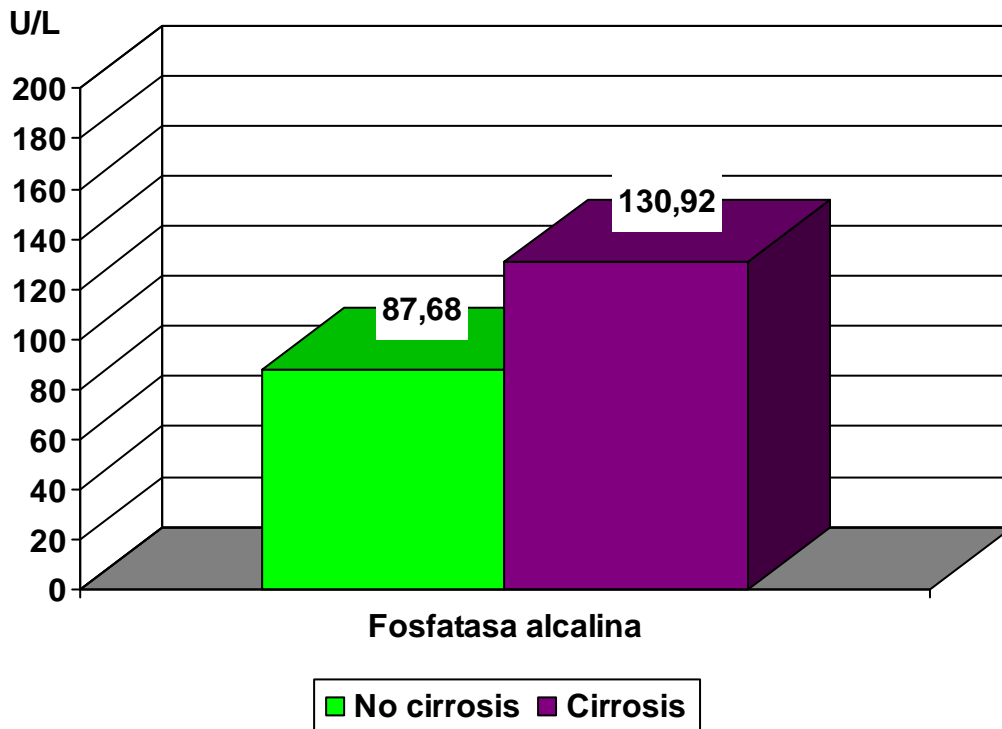


Figura 91. Valor medio de fosfatasa alcalina según los pacientes presenten o no fibrosis significativa; $p < 0,0001$.

- LDH: Se observaron valores significativamente superiores en el grupo de pacientes cirróticos ($448,65 \pm 142,801$ vs $396,36 \pm 84,961$); $p < 0,0001$. (Figura 92).

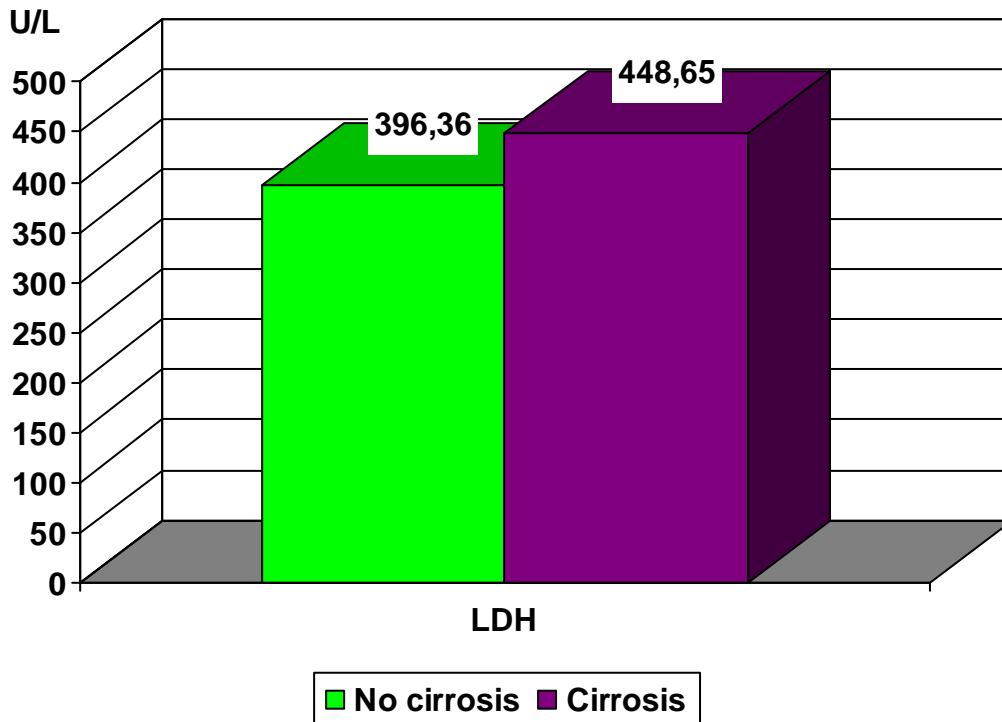


Figura 92. Valor medio de LDH según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Fe: No se observaron diferencias significativas en el valor de Fe en el conjunto de pacientes cirróticos con respecto a no cirróticos.
- Ferritina: No se encontraron diferencias significativas en los valores de ferritina al comparar ambos grupos.
- Proteínas totales: No se encontraron diferencias significativas al comparar las proteínas totales en los dos grupos.
- Albúmina: Los valores de albúmina están elevados de forma significativa en el grupo de pacientes no cirróticos ($4,17 \pm 0,400$ vs $3,48 \pm 0,633$); $p < 0,0001$. (Figura 93).

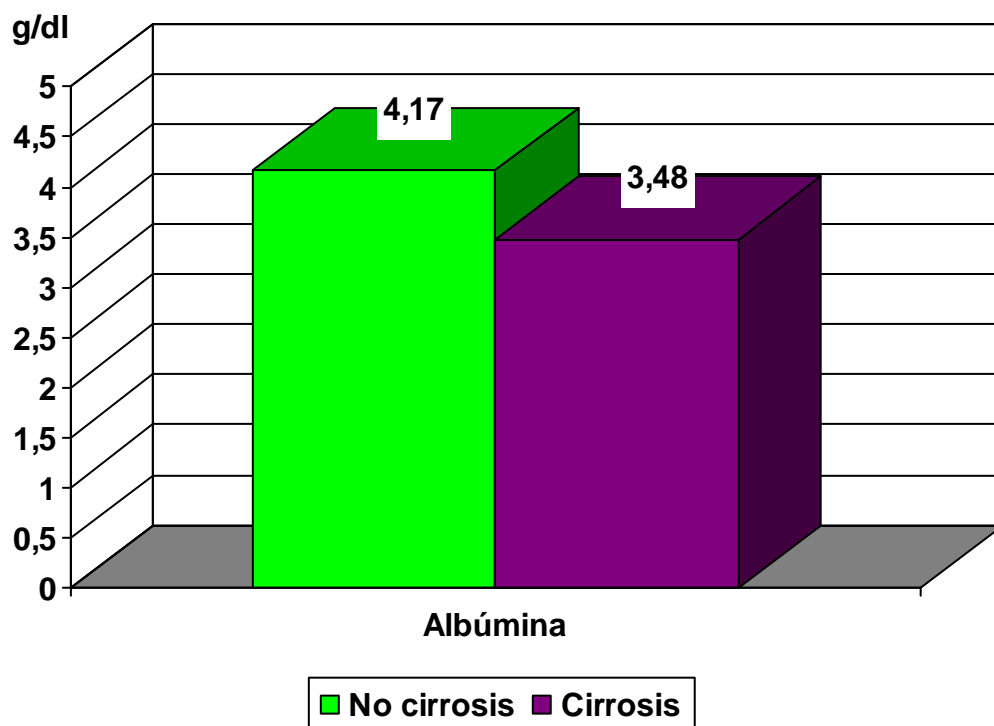


Figura 93. Valor medio de albúmina según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- AFP: Se observaron valores significativamente superiores en grupo de pacientes cirróticos ($646,12 \pm 2567,436$ vs $12,21 \pm 83,743$); $p < 0,0001$. (Figura 94).

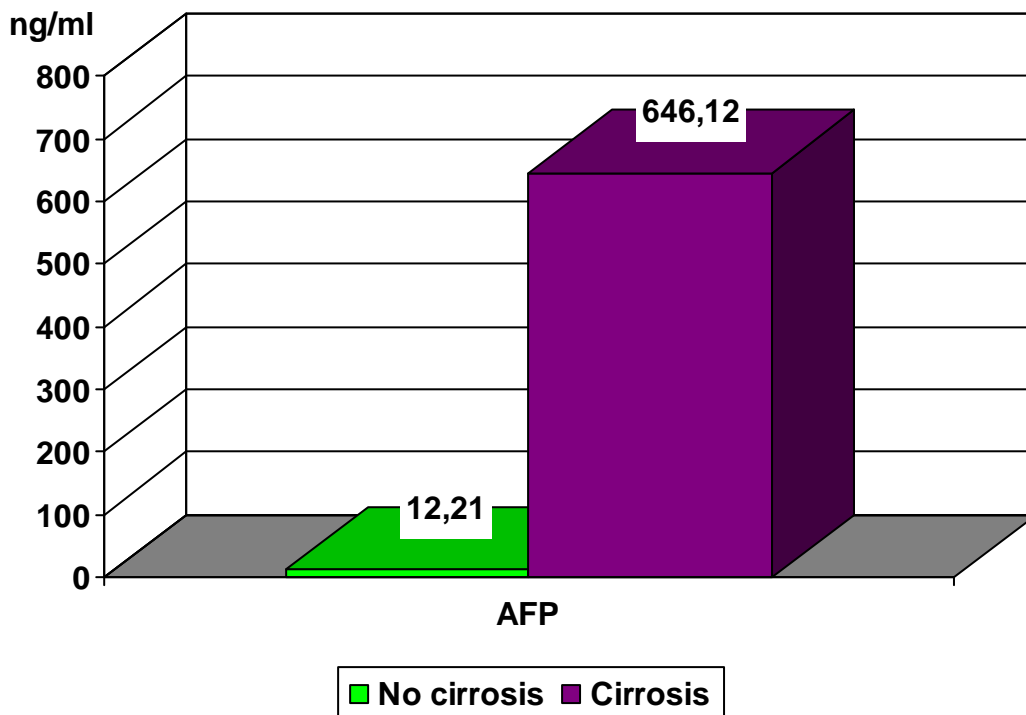


Figura 94. Valor medio de AFP según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- RNA PCR: El valor medio de carga viral en el grupo de pacientes no cirróticos ($4446624,55 \pm 6190760,147$) fue superior al del grupo de pacientes cirróticos ($2666968,85 \pm 3588406,525$); $p < 0,05$. (Figura 95).

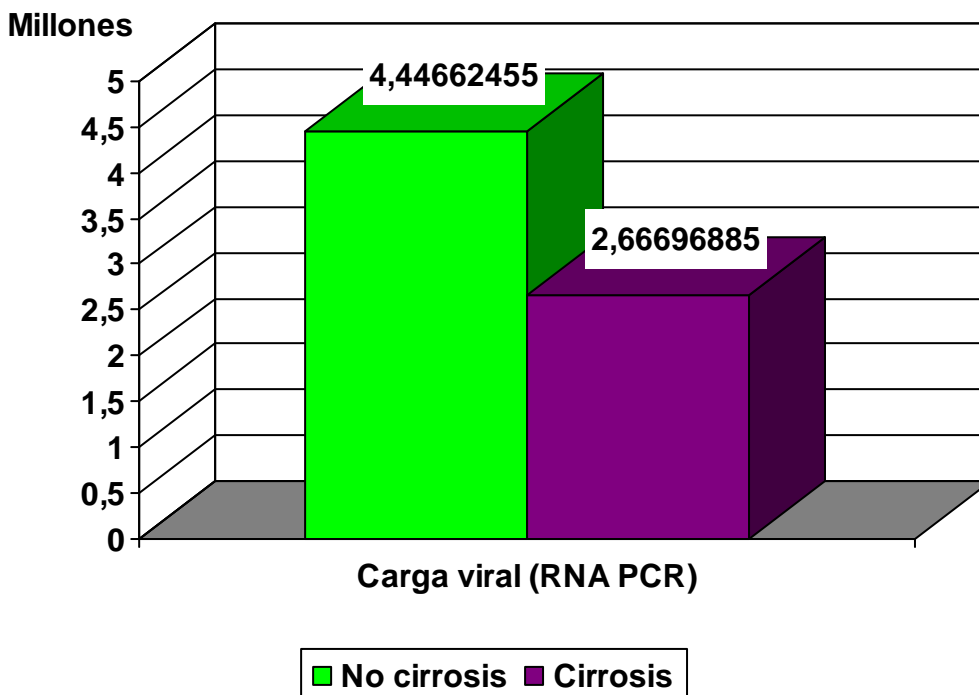


Figura 95. Carga viral media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,05$.

- Hemoglobina: Los valores de hemoglobina media fueron significativamente superiores en grupo de pacientes no cirróticos ($14,83 \pm 1,714$) con respecto a aquellos pacientes cirróticos ($13,52 \pm 2,455$); $p < 0.0001$. (Figura 96).

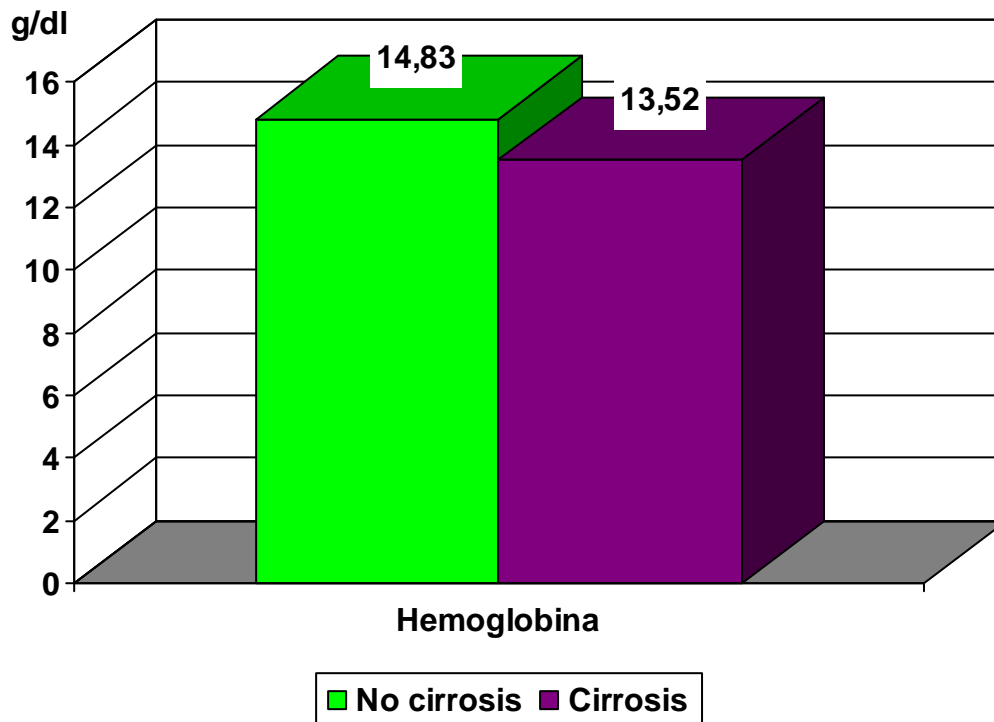


Figura 96. Hemoglobina media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Hematocrito: El valor medio de hematocrito fue significativamente superior en el grupo de pacientes no cirróticos ($43,99 \pm 4,785$) con respecto a aquellos pacientes cirróticos ($40,76 \pm 6,491$); $p < 0.0001$. (Figura 97).

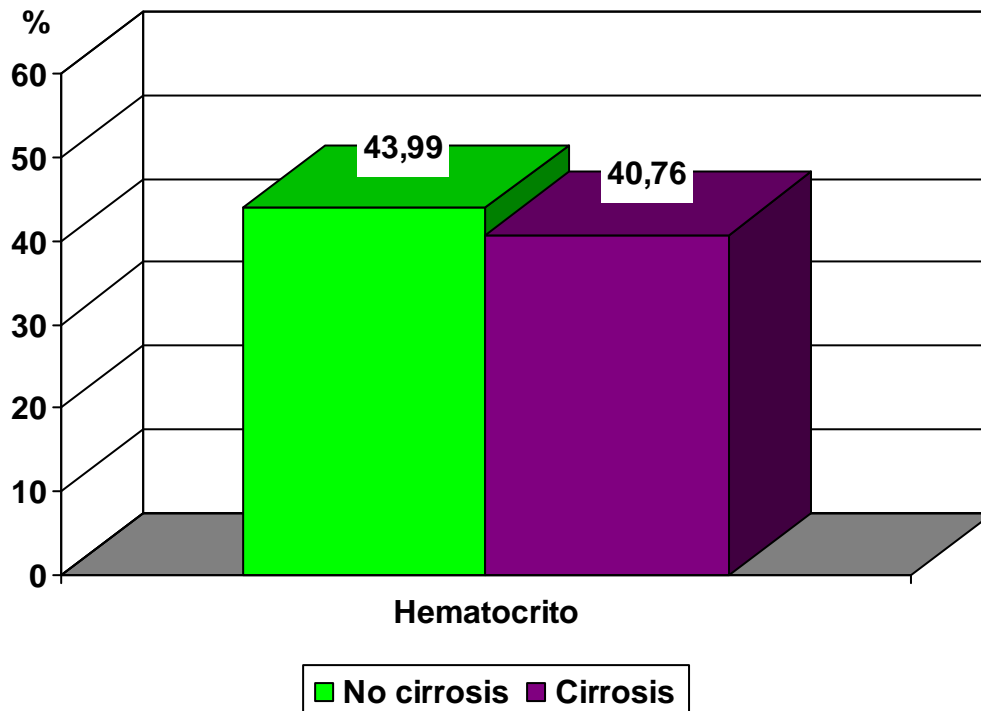


Figura 97. Valor medio de hematocrito según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- VCM: No se encontraron diferencias significativas en los valores de VCM al comparar ambos grupos.
- HCM: No se encontraron diferencias significativas en los valores de HCM al comparar ambos grupos.
- Leucocitos: El valor medio de leucocitos en el grupo de pacientes no cirróticos ($6489,87 \pm 2307,956$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes cirróticos ($5108,25 \pm 2343,253$); $p < 0,0001$. (Figura 98).

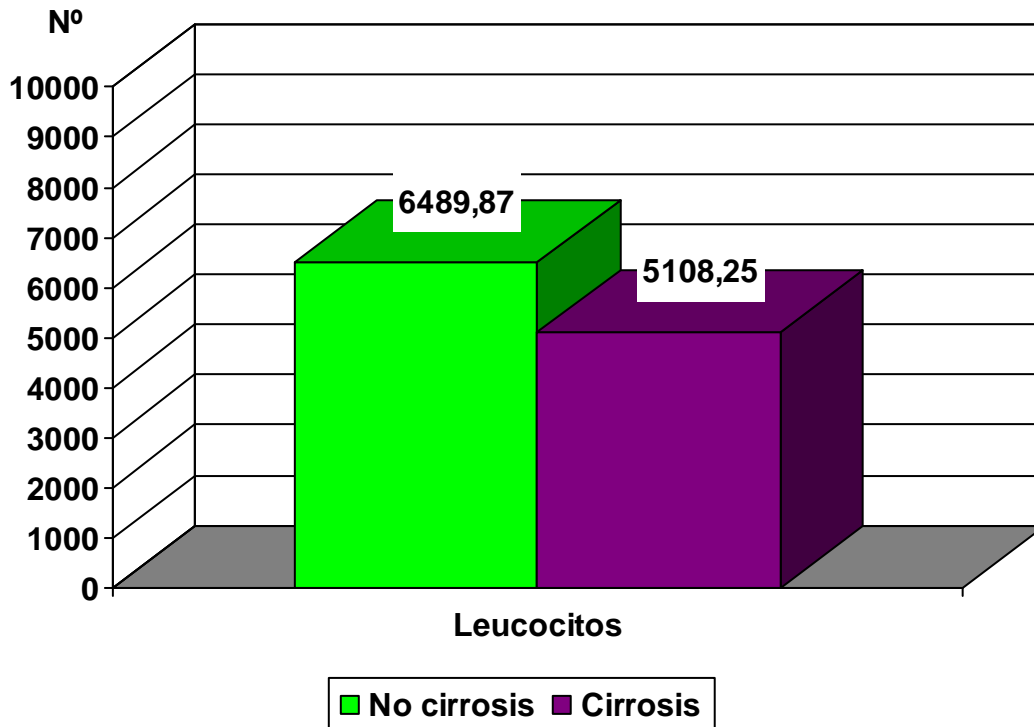


Figura 98. Valor medio de leucocitos según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Plaquetas: El valor medio de plaquetas en el grupo de pacientes no cirróticos ($210270,70 \pm 77887,975$) fue significativamente superior al grupo de pacientes cirróticos ($108555,56 \pm 50923,022$); $p < 0,0001$. (Figura 99).

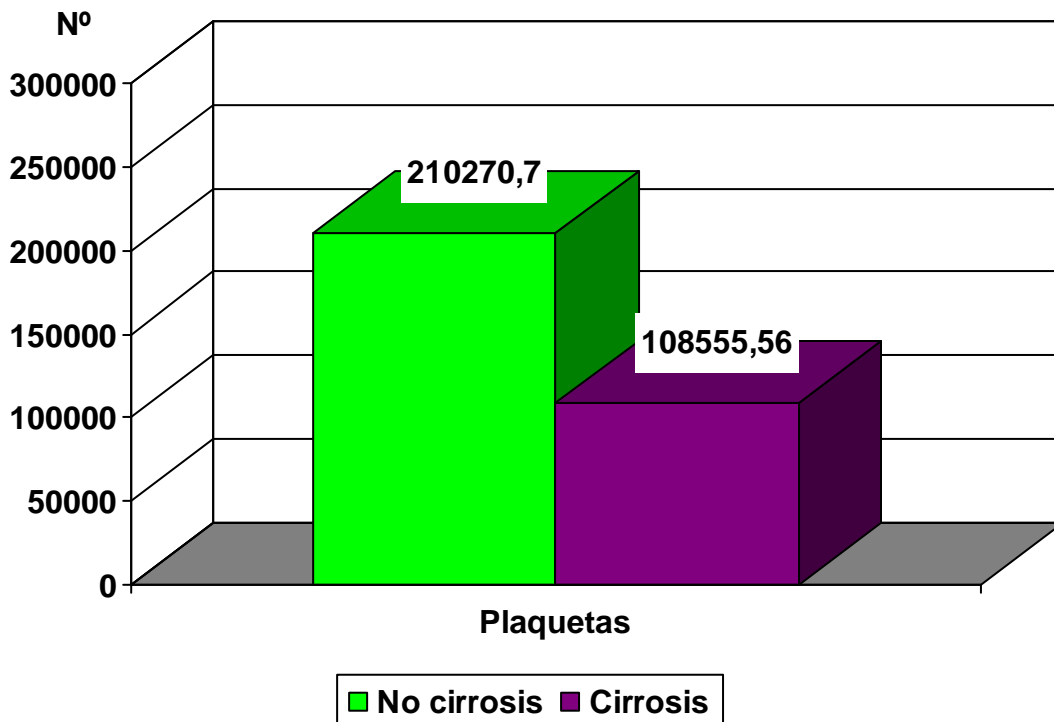


Figura 99. Valor medio de plaquetas según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Tiempo de protrombina: El valor medio de tiempo de protrombina en el grupo de pacientes cirróticos ($14,73 \pm 2,529$) fue significativamente superior al grupo de pacientes no cirróticos ($12,13 \pm 2,022$); $p < 0,0001$. (Figura 100).

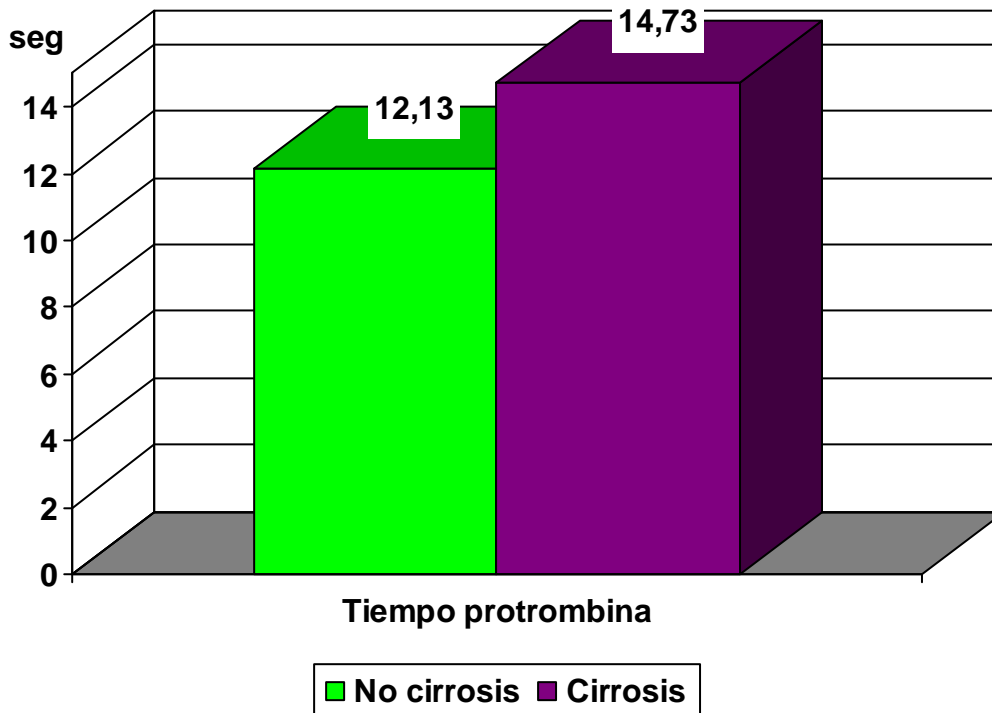


Figura 100. Tiempo de protrombina medio según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

- Actividad de protrombina: El valor medio de actividad de protrombina en el grupo de pacientes no cirróticos ($100,83 \pm 12,153$) fue significativamente superior al grupo de pacientes cirróticos ($75,33 \pm 19,065$); $p < 0,0001$. (Figura 101).

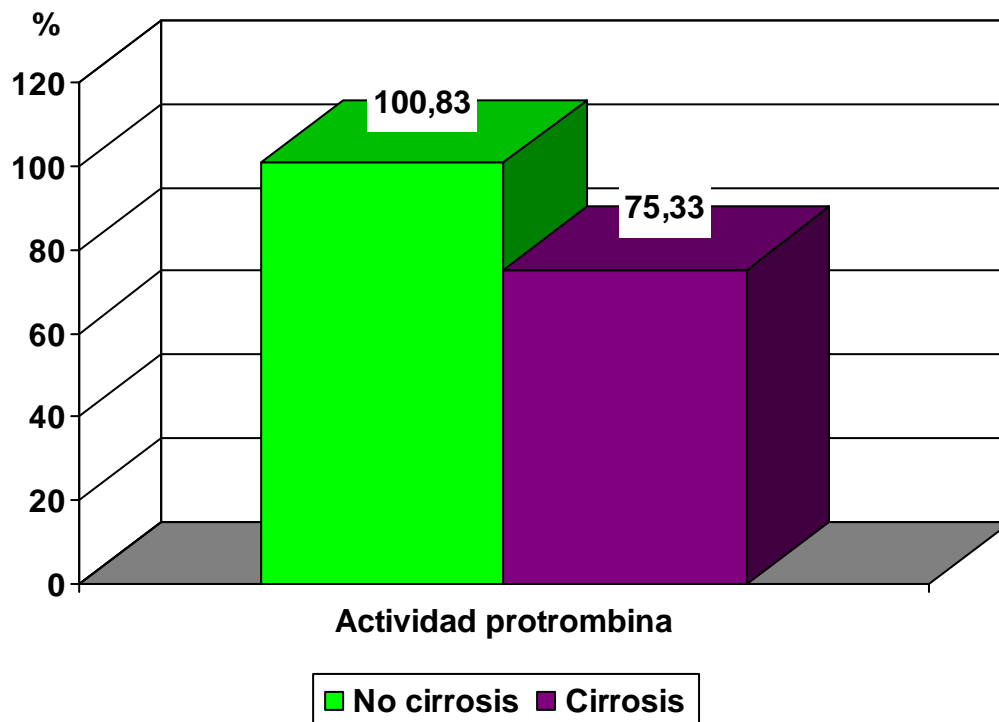


Figura 101. Actividad de protrombina media según los pacientes presenten o no cirrosis; $p < 0,0001$.

ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LAS VARIABLES ASOCIADAS AL DESARROLLO CIRROSIS HEPÁTICA.

Con el fin de controlar el efecto de terceras variables que pudieran enmascarar la relación con la cirrosis hepática hemos realizado un análisis multivariante, mediante el método de regresión logística binaria, considerando la cirrosis como variable dependiente. Modelo realizado con la pérdida de 43 pacientes, obteniendo una tasa de correcta clasificación de 90,7 %. P para la prueba de Hosmer-Lemeshow de 0,891. En dicho análisis observamos como variable independiente (predictoras), para el desarrollo cirrosis el nivel de GPT, el tiempo y la actividad de protrombina. (Tablas 75 y 76).

VARIABLE	B	Significación (p)	OR	I.C 95% para OR	
				Inferior	Superior
GPT	-0,005	0,041	1,08495	1,077	1,101
Tiempo protrombina	-0,222	0,044	1,099	1,006	1,354
Actividad protrombina	-0,093	0,001	0,912	0,872	0,953
Constante	-6,905	0,998	0,001		

Tabla 75. Estudio multivariante, realizado para evaluar la probabilidad de desarrollo cirrosis. Tasa de correcta clasificación: 90,7 %. Estadístico de Hosmer-Lemeshow: 0,891. Casos perdidos: 43

B: Parámetro estimado.

Significación (p): significación estadística global del modelo.

		CIRROTICOS = Normal		CIRROTICOS = Cirrosis		Total
		Observado	Esperado	Observado	Esperado	
Paso 11	1	33	33,000	0	0,000	33
	2	33	33,000	0	0,000	33
	3	33	33,000	0	0,000	33
	4	33	33,000	0	0,000	33
	5	33	33,000	0	0,000	33
	6	33	33,000	0	0,000	33
	7	31	30,828	2	2,172	33
	8	23	24,884	10	8,116	33
	9	18	16,452	15	16,548	33
	10	6	5,835	31	31,165	37

Tabla 76. Tabla de contingencias para la prueba de Hosmer y Lemeshow.

CURVA ROC PARA CIRROSIS HEPÁTICA.

El análisis discriminativo realizado para dicho modelo multivariante, muestra un área bajo la curva ROC de 0,955, (IC al 95% de 0,935-0,975). (Tabla 77 y figura 102).

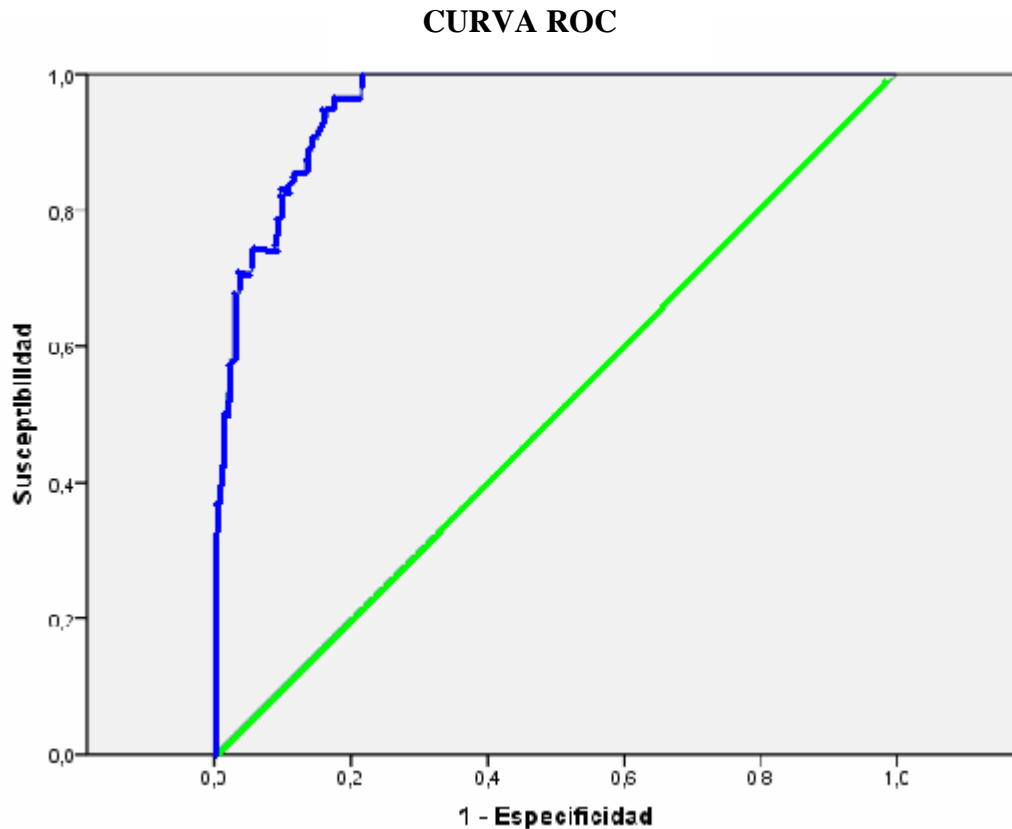


Figura 102. Área bajo la curva ROC, del estudio multivariado de predicción de cirrosis hepática.

ÁREA BAJO CURVA				
Variables resultado de contraste: Probabilidad pronosticada				
Área	Error típ. ^a	Sig. asintótica	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Limite inferior	Limite superior
0,955	0,010	0,0001	0,935	0,975
a. Bajo el supuesto no paramétrico				

Tabla 77. Área bajo la curva ROC, del estudio multivariado de predicción de cirrosis hepática.

DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUALITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaban hepatocarcinoma y aquellos que no lo presentaron, incluyendo variables cualitativas, encontrando diferencias significativas solamente con el grado de fibrosis y la cirrosis hepática con un nivel de significación menor de 0,05.

SEXO.

Mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo, cuando comparamos al grupo de pacientes con y sin hepatocarcinoma. (Tabla 78 y figura 103).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
SEXO, Nº (%)			0,756(NS)
VARÓN	241 (63,9%)	8 (2,1%)	
MUJER	125 (33,2%)	3 (0,8%)	

Tabla 78. Diferencias de frecuencia de varones y mujeres en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

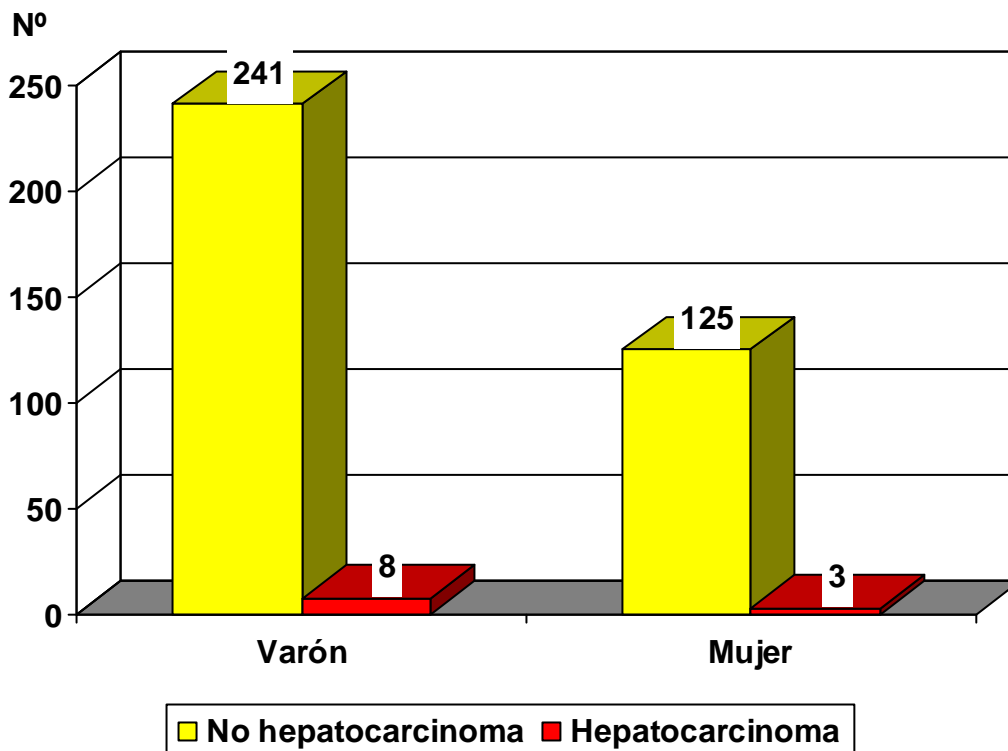


Figura 103. Diferencias de frecuencia de varones y mujeres en pacientes con y sin hepatocarcinoma; NS.

GENOTIPO.

Si se encontraron diferencias significativas en cuanto al genotipo, cuando comparamos al grupo de pacientes con y sin hepatocarcinoma, cuando empleamos *el test de Chi-cuadrado de Pearson*. (Tabla 79 y figura 104).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			
GEN 1	191 (68%)	6 (2,1%)	0,033
GEN 2	4 (1,4%)	1 (0,4%)	
GEN 3	46 (16,4%)	0 (0,0%)	
GEN 4	30 (10,7%)	3 (1,1%)	

Tabla 79. Diferencias de frecuencia de diferentes genotipos en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

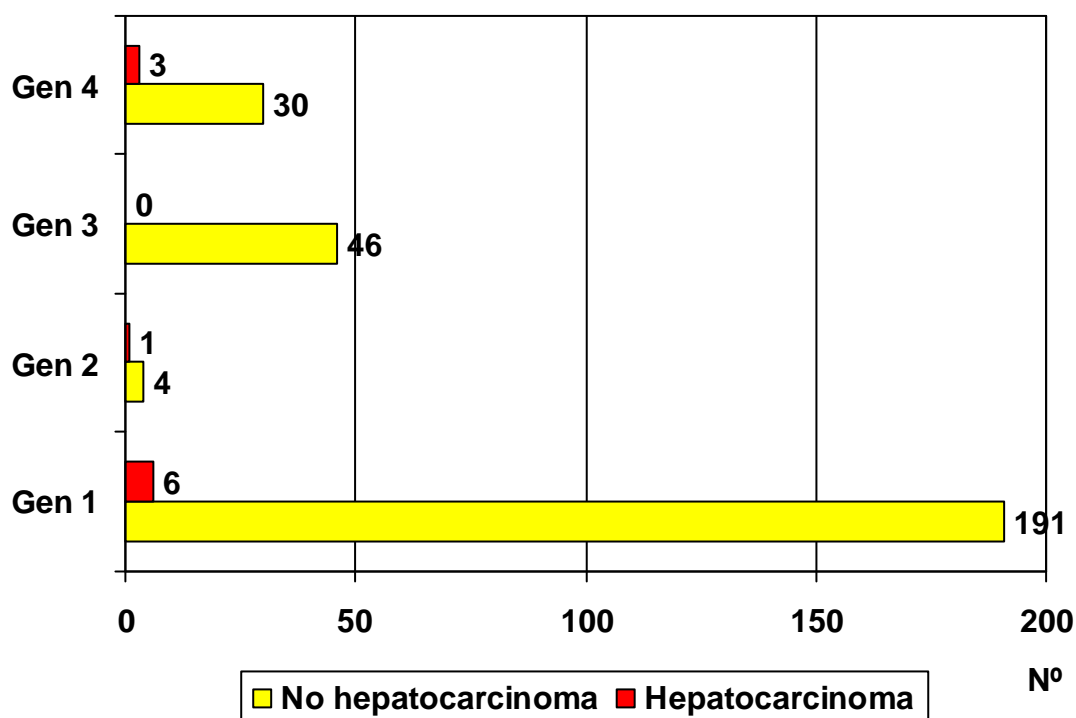


Figura 104. Diferencias de frecuencia de diferentes genotipos en pacientes con y sin hepatocarcinoma; $p < 0,05$.

Cuando categorizamos la variable genotipo, en genotipo 1 y diferente de 1, en este caso no se encontraron diferencias significativas en pacientes con y sin hepatocarcinoma. (Tabla 80 y figura 105).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
GENOTIPO, Nº (%)			
GEN 1	191 (68%)	6 (2,1%)	0,492(NS)
GEN DIFERENTE 1	80 (28,5 %)	4 (1,4%)	

Tabla 80. Diferencias de frecuencia de genotipo categorizado en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

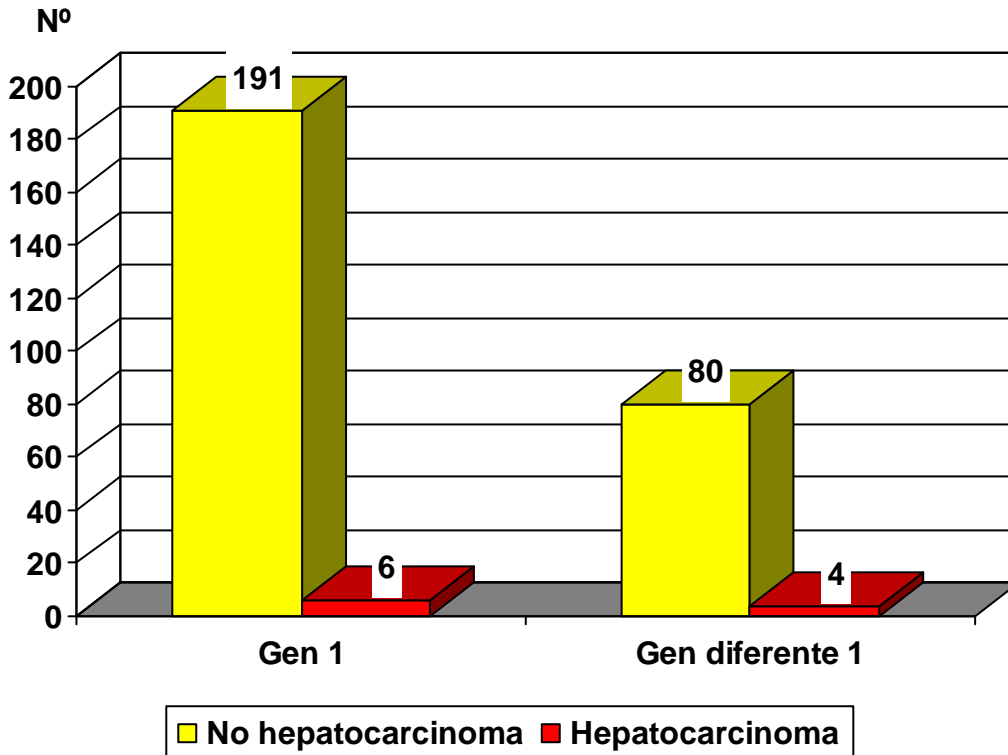


Figura 105. Diferencias de frecuencia de genotipo categorizado en pacientes con y sin hepatocarcinoma; NS.

FIBROSIS TOTAL.

Con respecto a la fibrosis total si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*, para ello hemos recodificado la variable fibrosis total considerando los pacientes con fibrosis no clasificada como valores perdidos. (Tabla 81 y figura 106).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
FIBROSIS HEPÁTICA, Nº (%)			
NO FIBROSIS	214(61,7%)	0 (0,0%)	0,0001
SI FIBROSIS	123 (35,4%)	10 (2,9%)	

Tabla 81. Diferencias de frecuencia de fibrosis si o no en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

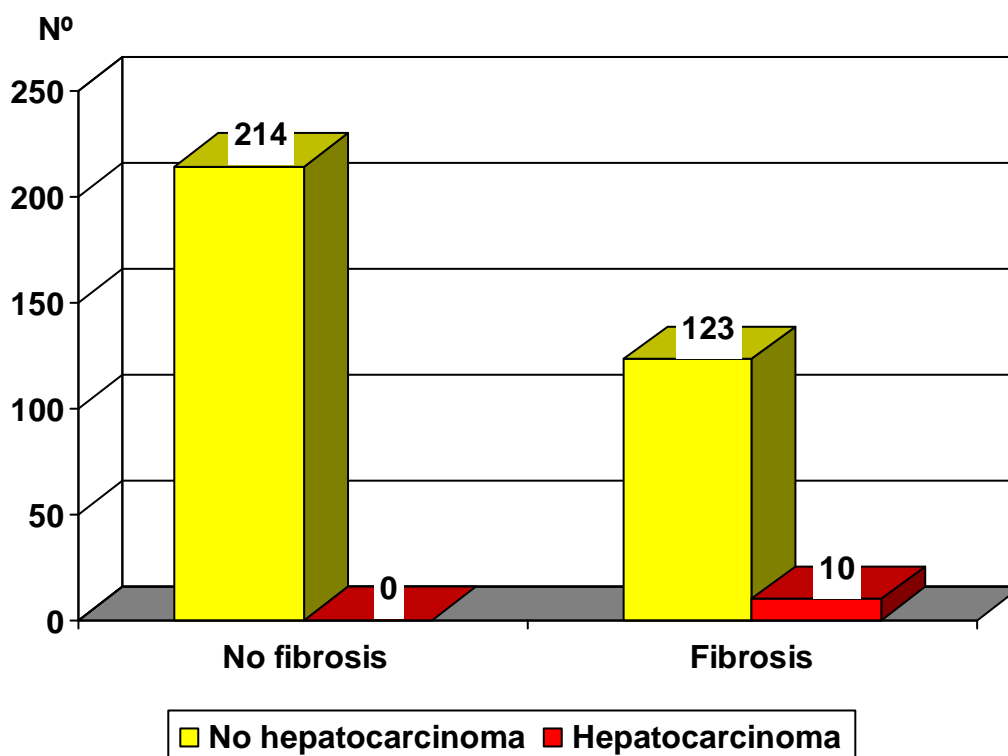


Figura 106. Diferencias de frecuencia de fibrosis si o no en pacientes con y sin hepatocarcinoma; $p < 0,0001$.

CIRROSIS HEPÁTICA.

En el caso de la cirrosis hepática, si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, mediante la utilización del *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 82 y figura 107).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CIRROSIS HEPÁTICA, Nº (%)			
NO CIRROSIS	313 (83,0%)	1 (0,3%)	0,0001
SI CIRROSIS	53 (14,1%)	10 (2,7%)	

Tabla 82. Diferencias de frecuencia de cirrosis en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

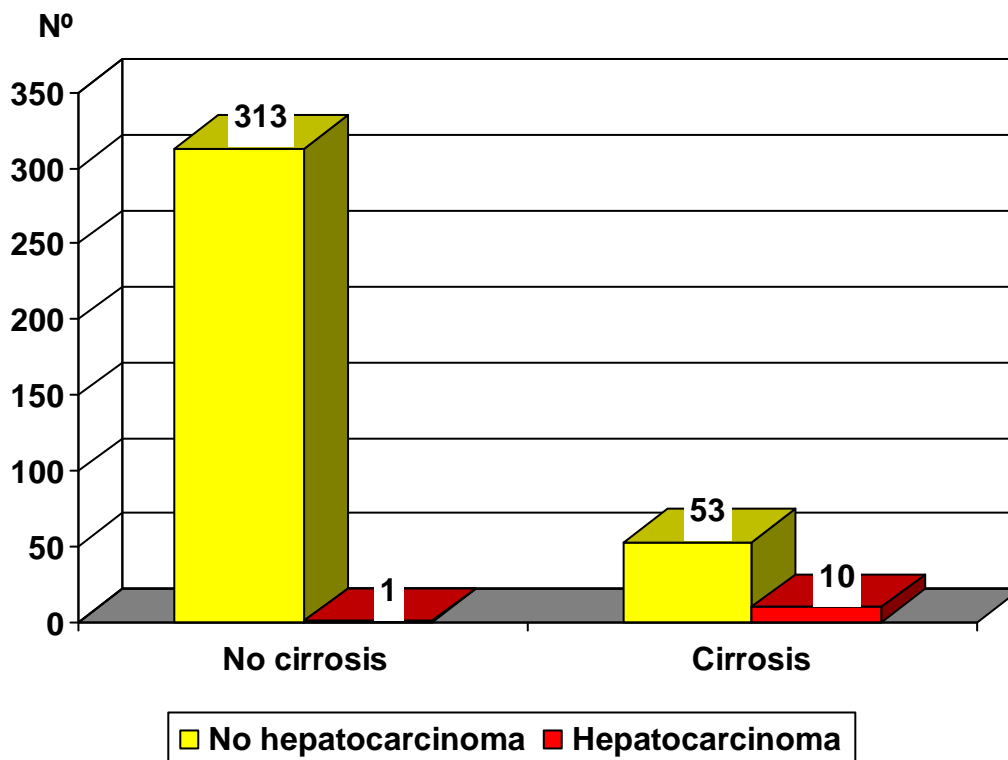


Figura 107. Diferencias de frecuencia de cirrosis en pacientes con y sin hepatocarcinoma; $p < 0,0001$.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 1 (< O > 500,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 500.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 83 y figura 108).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 1, Nº (%)			1,000 (NS)
CARGA VIRAL BAJA	112 (29,7%)	3 (0,8%)	
CARGA VIRAL ALTA	254 (67,4 %)	8 (2,1 %)	

Tabla 83. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

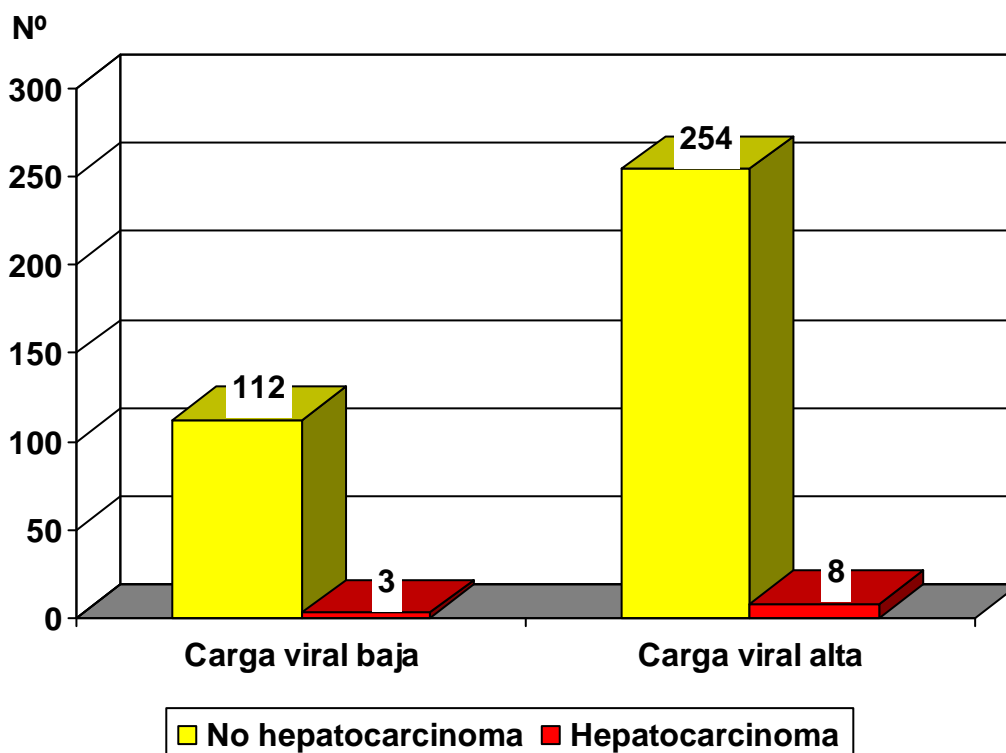


Figura 108. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin hepatocarcinoma; NS.

CARGA VIRAL CATEGORIZADA 2 (< O > 300,000 COPIAS).

Cuando categorizamos la carga viral, considerando que hay carga viral alta cuando los valores son superiores a 300.000 y carga viral baja cuando son menores de esta cifra, tampoco encontramos diferencias significativas, en pacientes con y sin hepatocarcinoma, empleando el *estadístico exacto de Fisher*. (Tabla 84 y figura 109).

VARIABLES CUALITATIVAS	HEPATOCARCINOMA		P (SIGNIFICACIÓN)
	NO	SI	
CARGA VIRAL CAT 2, Nº (%)			
CARGA VIRAL BAJA	86 (22,8%)	3 (0,8%)	0,726(NS)
CARGA VIRAL ALTA	280 (74,3 %)	8 (2,1 %)	

Tabla 84. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin hepatocarcinoma.

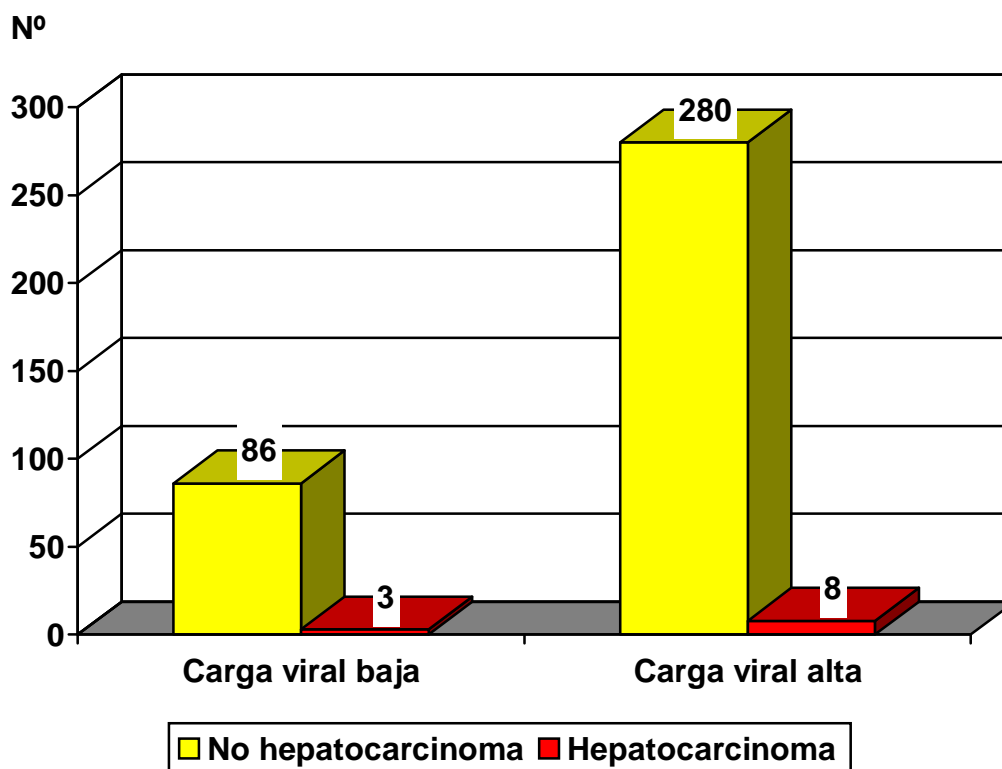


Figura 109. Diferencias de frecuencia de carga viral categorizada en pacientes con y sin hepatocarcinoma; NS.

ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA.

Se realizó un análisis univariante teniendo en cuenta los pacientes que presentaban hepatocarcinoma y aquellos que no incluyendo variables cuantitativas. Se observaron diferencias significativas en cuanto a edad, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, plaquetas, tiempo y actividad de protrombina con un nivel de significación inferior a 0,05. (Tabla 85).

VARIABLE	NO HEPATOCA (N=366)	SI HEPATOCA (N=11)	p (significación)
media±desviación típica			
Edad	50,11±13,461	64,09±12,012	0,001
Glucosa mg/dl	104,48±31,974	105,91±34,448	0,884 (NS)
Urea mg/dl	36,55±25,966	36,82±14,912	0,973 (NS)
Crea mg/dl	1,26±1,527	1,03±0,205	0,611(NS)
Ácido úrico mg/dl	5,18±1,436	5,71±2,024	0,236 (NS)
Colesterol mg/dl	173,93±39,417	166,36±54,248	0,536 (NS)
Triglicéridos mg/dl	115,68±85,476	100,36±20,680	0,553 (NS)
Bilirrubina total mg/dl	1,03±0,968	1,80±1,183	0,010
GOT U/L	68,91±57,835	118,91±98,451	0,124 (NS)
GPT U/L	86,92±75,483	104,82±85,663	0,441(NS)
GGT U/L	100,89±114,068	211,91±186,728	0,078 (NS)
Fosfatasa alcalina U/L	92,74±39,241	168,36±92,540	0,022
LDH U/L	404,69±97,240	415,20±144,668	0,740 (NS)
Hierro ug/dl	118,20±59,361	110,20±45,709	0,673 (NS)
Ferritina ug/dl	257,96±279,173	28± -	0,413 (NS)
Proteínas totales g/dl	7,60±0,583	7,56±0,950	0,897 (NS)
Albúmina g/dl	4,04±0,519	3,52±0,787	0,081(NS)
AFP ng/ml	14,37±63,769	3124,31±5216,016	0,076 (NS)
RNA PCR UI/ml	4125197,48±5834900,436	4948806,11±7255132,660	0,647 (NS)
Hemoglobina g/dl	14,65±1,869	13,34±3,013	0,181 (NS)
Hematocrito %	43,55±5,110	40,22±8,221	0,211(NS)
VCM fl	90,72±8,237	93,48±7,540	0,273 (NS)
HCM pg	30,49±2,945	30,89±2,786	0,659 (NS)
Leucocitos x10e ⁹ /L	6275,98±2354,979	5693,64±2827,622	0,422 (NS)
Plaquetas	195439,89±83095,393	121181,82±48292,480	0,003
Tiempo protrombina seg	12,50±2,308	14,43±2,061	0,007
Actividad de protrombina %	97,18±16,145	77,49±18,000	0,0001

Tabla 85: Valores analíticos medios según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma en el análisis univariante.

- Edad: La edad media en el grupo de pacientes con hepatocarcinoma (64,09±12,012) fue significativamente superior al del grupo de pacientes que no lo asociaban (50,11±13,461); p<0,001. (Figura 110).

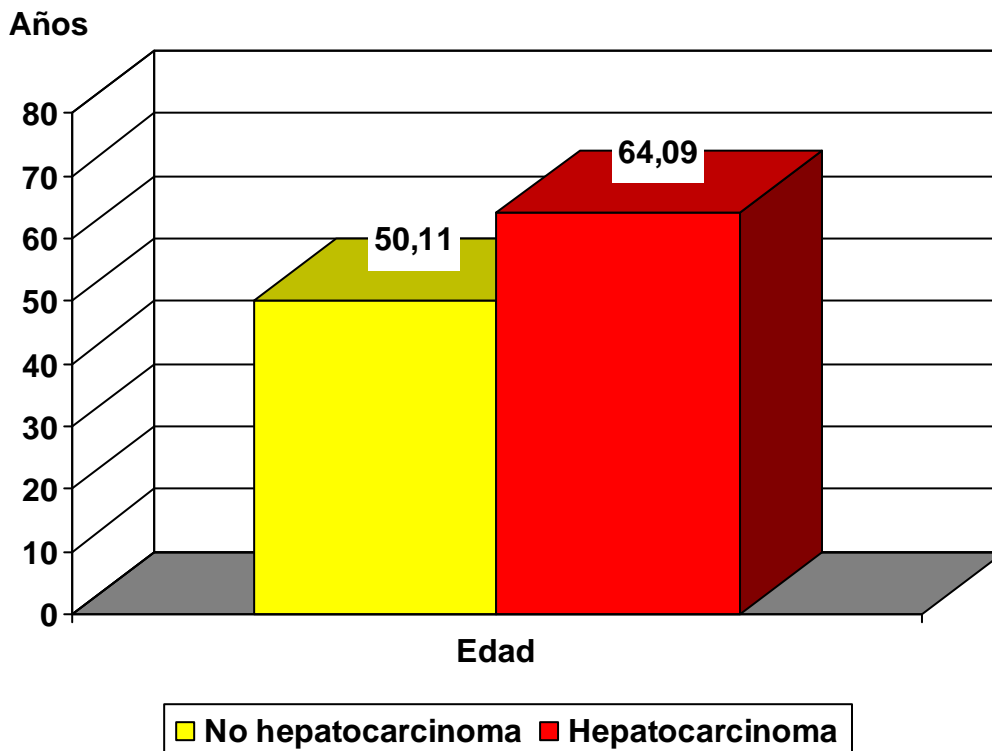


Figura 110. Edad media según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma; $p < 0,001$.

- Glucosa: No se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa en los pacientes con y sin hepatocarcinoma asociado.
- Urea: No se observaron diferencias significativas en los niveles de urea al comparar al grupo de pacientes con hepatocarcinoma y los que no lo presentaban.
- Creatinina: No se observaron diferencias significativas en los niveles de creatinina al comparar al grupo de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- Ácido úrico: No se observaron diferencias significativas en los niveles de ácido úrico al comparar al grupo de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- Colesterol: No se encontraron diferencias significativas en los valores de colesterol al comparar ambos grupos.

- Triglicéridos: No se encontraron diferencias significativas en los valores de triglicéridos al comparar ambos grupos.
- Bilirrubina total: Los valores de bilirrubina total media fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes con hepatocarcinoma ($1,80 \pm 1,183$) con respecto a aquellos pacientes que no lo asociaban ($1,03 \pm 0,968$); $p < 0,05$. (Figura 111).

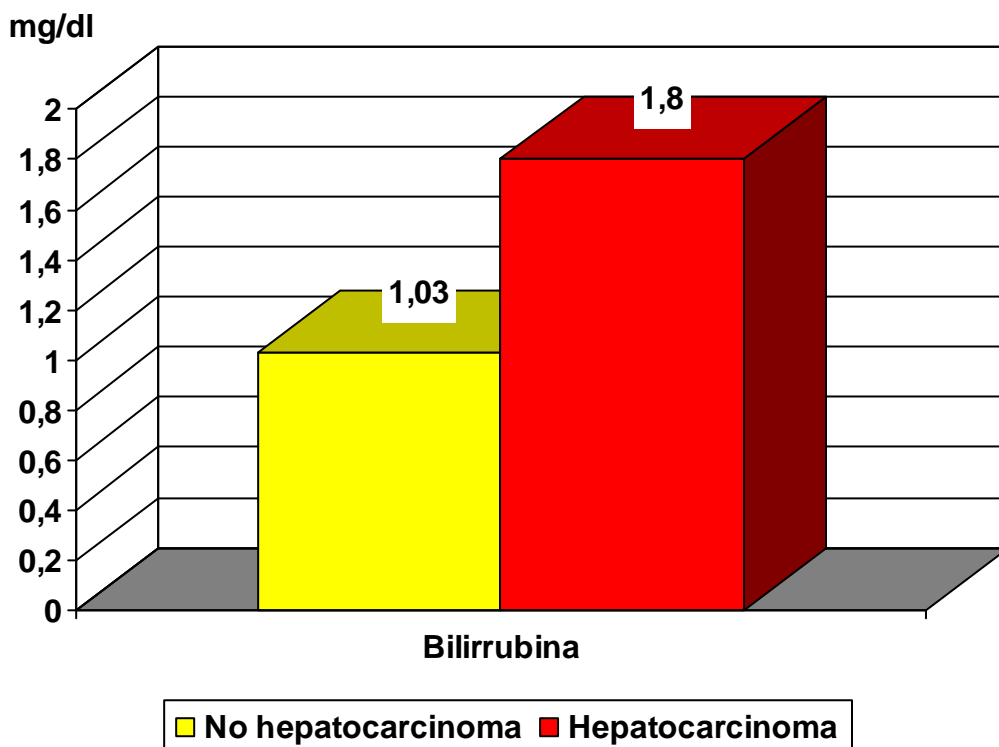


Figura 111. Bilirrubina total media según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma; $p < 0,05$.

- GOT: No se encontraron diferencias significativas en los valores de GOT al comparar ambos grupos.
- GPT: No se encontraron diferencias significativas en los valores de GPT al comparar ambos grupos.

- GGT: No se encontraron diferencias significativas en los valores de GGT al comparar ambos grupos.
- Fosfatasa alcalina: El valor medio en el grupo de pacientes con hepatocarcinoma ($168,36 \pm 92,540$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes sin hepatocarcinoma asociado ($92,74 \pm 39,241$); $p < 0,05$. (Figura 112).

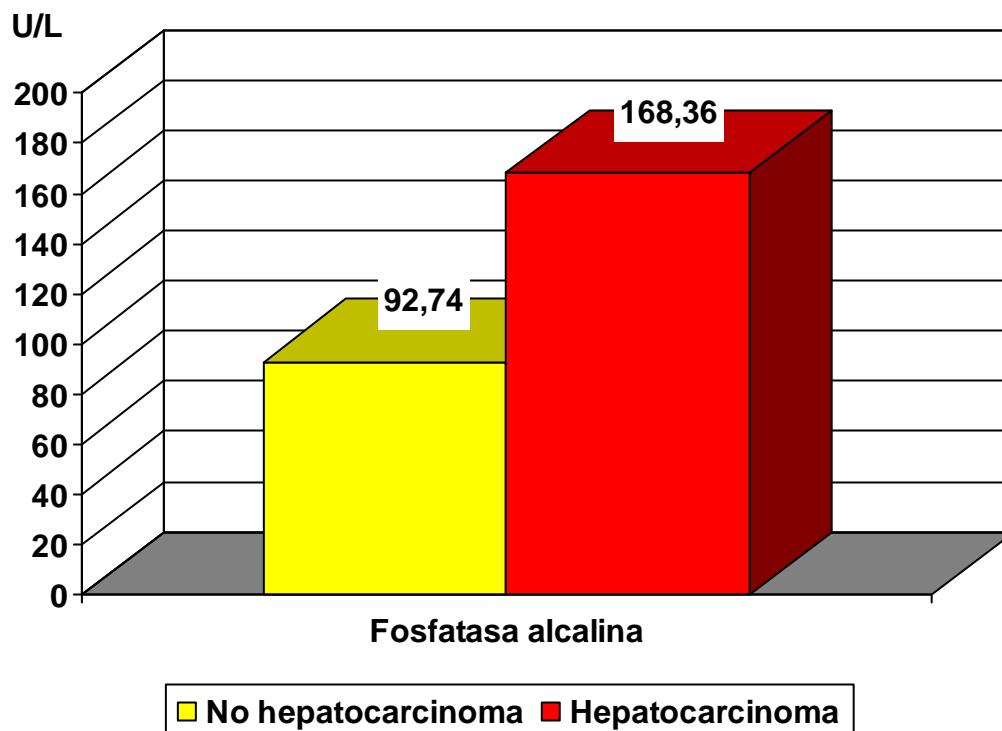


Figura 112. Valor medio de fosfatasa alcalina según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma; $p < 0,05$.

- LDH: No se observaron diferencias significativas en el valor de LDH en el conjunto de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- Fe: No se observaron diferencias significativas en el valor de Fe en el conjunto de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- Ferritina: No se encontraron diferencias significativas en los valores de ferritina al comparar ambos grupos.
- Proteínas totales: No se encontraron diferencias significativas al comparar las proteínas totales en los dos grupos.

- Albúmina: No se observaron diferencias significativas en el valor de albúmina en el conjunto de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- AFP: No se encontraron diferencias significativas en los valores de AFP al comparar ambos grupos.
- RNA PCR: No se encontraron diferencias en los niveles de carga viral al comparar ambos grupos.
- Hemoglobina: No se encontraron diferencias significativas al comparar los niveles de hemoglobina en los dos grupos.
- Hematocrito: No se encontraron diferencias significativas en los valores de hematocrito al comparar ambos grupos.
- VCM: No se encontraron diferencias significativas en los valores de VCM al comparar ambos grupos.
- HCM: No se encontraron diferencias significativas en los valores de HCM al comparar ambos grupos.
- Leucocitos: No se observaron diferencias significativas en el valor de leucocitos en el conjunto de pacientes con y sin hepatocarcinoma.
- Plaquetas: El valor medio de plaquetas en el grupo de pacientes sin hepatocarcinoma ($195439,89 \pm 83095,393$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes con hepatocarcinoma ($121181,82 \pm 48292,480$); $p < 0,05$. **(Figura 113).**

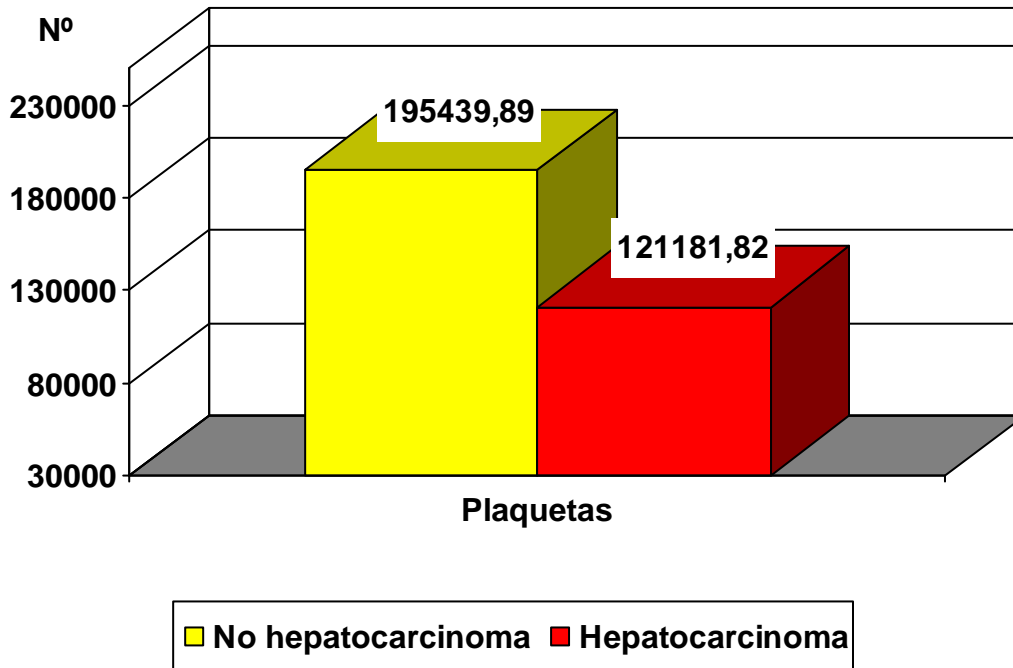


Figura 113. Valor medio de plaquetas según los pacientes presenten o hepatocarcinoma; $p < 0,05$.

- Tiempo de protrombina: El valor medio de tiempo de protrombina en el grupo de pacientes con hepatocarcinoma ($14,43 \pm 2,061$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes sin hepatocarcinoma ($12,50 \pm 2,308$); $p < 0,05$. (Figura 114).

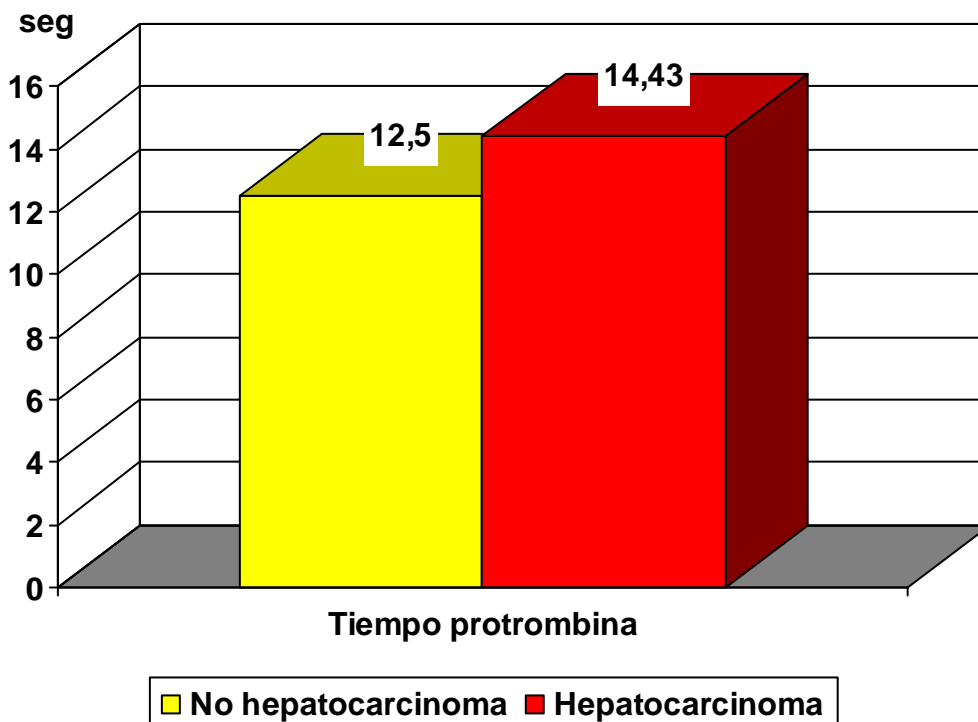


Figura 114. Tiempo de protrombina medio según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma; $p < 0,05$.

- Actividad de protrombina: El valor medio de actividad de protrombina en el grupo de pacientes sin hepatocarcinoma ($97,18 \pm 16,145$) fue significativamente superior al del grupo de pacientes que si lo presentaban ($77,49 \pm 18,000$); $p < 0,0001$. (Figura 115).

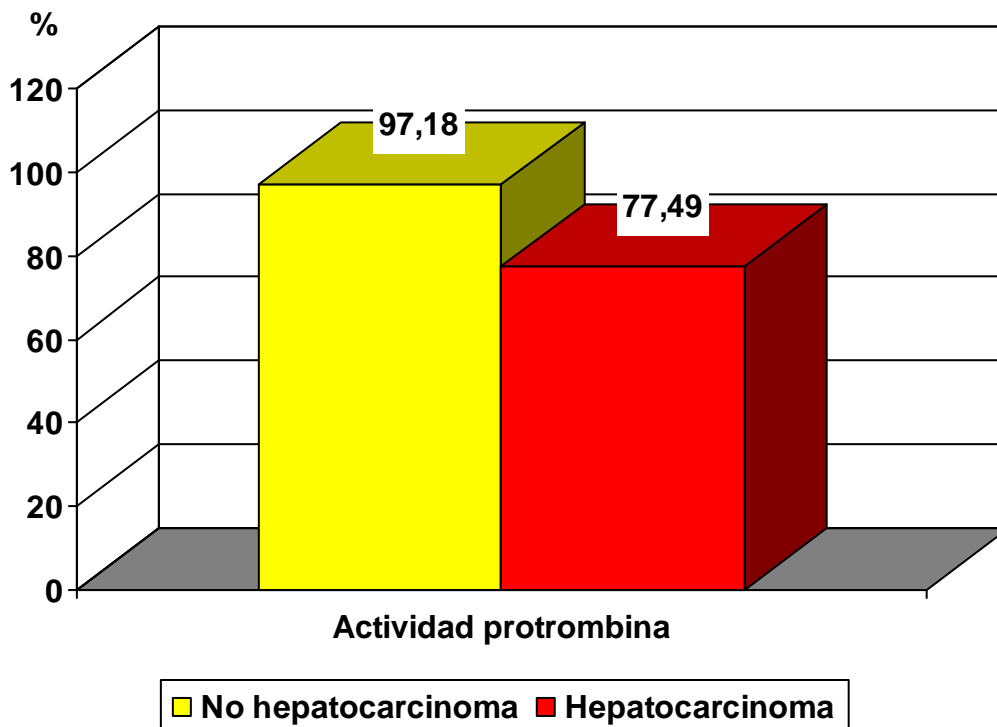


Figura 115. Actividad de protrombina media según los pacientes presenten o no hepatocarcinoma; $p < 0,0001$.

ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LAS VARIABLES ASOCIADAS AL DESARROLLO HEPATOCARCINOMA.

Se estudia mediante regresión logística binaria el desarrollo de hepatocarcinoma, pero no se obtienen resultados dado que el número de pacientes es menor a 20.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN



FRECUENCIA DE HEPATITIS CRÓNICA C EN POBLACIÓN DE REFERENCIA.

La infección por el VHC es una patología que tiene una distribución universal, cuya prevalencia a nivel mundial es del orden del 3 % (se estima que entre 130 y 170 millones de personas están infectadas por VHC), pero su prevalencia varía de unos países a otros en función de la importancia que poseen en cada lugar los distintos mecanismos de transmisión^{23,131}. En España la prevalencia oscila entre el 1-2,6 %, aunque las encuestas serológicas efectuadas en la población general española muestran diferencias entre unas regiones y otras, si bien estos estudios son relativamente antiguos, por lo que sería necesario una encuesta epidemiológica a nivel nacional para determinar si se han producido cambios en los últimos 10 años y si existen realmente diferencias entre las distintas regiones de España.

La prevalencia de anticuerpos frente al VHC en España se examinó, en el estudio de Bruguera et al⁶, a partir de los datos obtenidos de: a) 5 encuestas seroepidemiológicas en muestras aleatorias de la población general de La Rioja¹³², Murcia¹³³, Cataluña¹³⁴, Asturias¹³⁵ y Zamora¹³⁶; b) una encuesta en población general de 2 zonas de Cataluña¹³⁷; c) otra en trabajadores de una empresa de Madrid¹³⁸; d) 3 encuestas en escolares de la región central del país¹³⁹⁻¹⁴¹, y e) 4 encuestas serológicas en embarazadas de Cataluña, Granada, Asturias y Salamanca¹⁴²⁻¹⁴⁵. Todas ellas se efectuaron en la década de los noventa. Los resultados de estos estudios permitieron señalar que la prevalencia de anticuerpos frente al VHC en España oscila entre el 1 y el 2,6% como hemos comentado anteriormente (**tabla 86**), claramente superior a la observada en los países centroeuropeos (un 0,9% en Bélgica, un 0,6% en Alemania, un 1% en Francia), pero similar o inferior a la encontrada en el norte de Italia (3,2-4,8%)⁵. Teniendo en cuenta que aproximadamente el 75% de los sujetos con anticuerpos frente al VHC son virémicos, se puede estimar que la prevalencia de infección activa por el VHC se situaría entre el 1,2 y el 1,9%, de modo que el número de personas infectadas en España por el VHC estaría entre 480.000 y 760.000⁶.

Las encuestas serológicas efectuadas en población general española muestran diferencias en la prevalencia de anticuerpos frente al VHC entre unas regiones y otras: es más elevada en las regiones más industrializadas, como Madrid y Cataluña (el 2,5 y el 2,6%), que en las más rurales, como La Rioja (2%) y Asturias (1,6%).

Además, la inmigración, que es un fenómeno de máxima actualidad en nuestro país, podría ejercer una cierta influencia en este sentido, incrementando la prevalencia de la población residente en España, ya que los estudios efectuados en muestras pequeñas de población inmigrante muestran tasas elevadas de prevalencia entre los asiáticos (15,3%)

y los subsaharianos (entre el 8,6 y el 17%), aunque en los inmigrantes latinoamericanos es inferior a la de la población autóctona (0,4%) y en los norteafricanos es similar (1,9%).

El conocimiento de la incidencia de la hepatitis C tiene varias limitaciones ya que la mayoría de las infecciones agudas por el VHC pasan clínicamente inadvertidas por lo que no se diagnostican, y al no existir indicadores de infección reciente, no se pueden diferenciar las infecciones agudas de las crónicas en un paciente con anticuerpos frente al VHC positivos. Por lo general se clasifican conjuntamente los casos de hepatitis C y de otras hepatitis, supuestamente virales, bajo el epígrafe hepatitis no A no B, lo que impide considerar que todas las hepatitis agudas notificadas en esta categoría sean hepatitis C. Además, existe una infranotificación de los casos de hepatitis a los servicios de vigilancia epidemiológica de cada comunidad autónoma⁵.

La información sobre casos incidentes notificados a la red nacional de Vigilancia Epidemiológica demuestran una reducción progresiva de la hepatitis “no A no B” (epígrafe bajo el que se notifica la hepatitis C) en España a lo largo de los últimos 7 años, cuya incidencia anual ha pasado de 6,82 por 100.000 habitantes en 1977 a 1,8 en 2006, lo que representa una disminución del 66%. Sin embargo, existe como hemos mencionado, una infranotificación de los casos de hepatitis a los servicios de vigilancia epidemiológica de cada comunidad autónoma. Según el estudio de Bruguera et al, donde se especula que sólo se declaran el 20% de los casos de hepatitis virales agudas a los servicios de vigilancia epidemiológica, se estima que el número anual de casos de hepatitis aguda C con expresión clínica en España sería del orden de 4.600 por año⁵.

En 2009, Murcia J et al.¹⁴⁶ publicaron un estudio acerca de la prevalencia de la infección crónica por VHC y sus genotipos en una población penitenciaria y encontraron una prevalencia de infección crónica por VHC del 34,2% (IC del 95%: 30,8–37,8). Esta cifra es similar a la que se comunicó desde prisiones inglesas, irlandesas y estadounidenses e inferior a la de otros estudios españoles. Estas diferencias de prevalencia entre estudios españoles podrían ser debidas al descenso de los ADVP y al aumento de la población inmigrante. Además, en este estudio la prevalencia de infección en el grupo que negaba cualquier consumo de drogas intravenosas era de un 5,8%, mientras que la prevalencia de la población general es del 1-2 %. Esto se podría explicar por una mayor vulnerabilidad a la infección crónica por VHC en la población penitenciaria, aunque habría que tener en cuenta la posibilidad de que algunos encuestados ocultaran un consumo intravenoso antiguo.

POBLACIÓN	AÑO DE PUBLICACIÓN	N	ANTICUERPOS POSITIVOS (%) (IC del 95%)
Población general			
La Rioja ¹³²	1996	890	2 (1,20-3,18)
Murcia ¹³³	1996	2.203	1
Cataluña ¹³⁴	2001	2.142	2,5 (1,8-3,2)
Asturias ¹³⁵	2001	1.170	1,6 (1,15-3,2)
Zamora ¹³⁶	2002	600	0,7 (0,27-1,82)
Cataluña ¹³⁷	2002	2.194	2,6 (2,53-2,75)
Madrid ¹³⁸	1997	1.109	2,5
Escolares			
Extremadura ¹³⁹	1996	411	0
Madrid ¹⁴⁰	1996	500	0,36
Guadalajara ¹⁴¹	2001	268	0,7
Embarazadas			
Cataluña ¹⁴²	1994	2.203	1 (0,74-1,35)
Granada ¹⁴³	1998	3.003	0,63 (0,36-0,95)
Asturias ¹⁴⁴	2004	2.287	1,44
Salamanca ¹⁴⁵	2004	2.929	0,4
Prisión			
Alicante ¹⁴⁶	2009	730	34,2 (30,8-37,8)

Tabla 86. Prevalencia de anticuerpos frente al VHC en personas supuestamente sanas. Reproducido de Bruguera M et al.⁶ con permiso del autor.

Martínez-Bauer E et al.¹⁴⁷ con el objetivo de estudiar la importancia actual de la infección por VHC nosocomial realizaron un análisis epidemiológico retrospectivo de todos los casos de hepatitis C aguda diagnosticada en 18 hospitales españoles entre 1998 y 2005 con 109 casos documentados. Entre los posibles factores de riesgo para adquirir el virus, el observado con mayor frecuencia (73%) fue el ingreso en los 6 meses anteriores. En los pacientes infectados no se observó predominio de ninguna patología de base, motivo de ingreso, vía de ingreso ni la realización de cirugía u otras pruebas de carácter cruento. Posteriormente, Pérez-Álvarez R et al.¹⁴⁸ publicó otro estudio retrospectivo con 131 pacientes diagnosticados de hepatitis aguda C procedentes también de 18 hospitales españoles entre 1989 y 2010. Ambas constituyen hasta la fecha las dos mayores series publicadas en nuestro país.

En nuestro estudio no sería correcto hablar de prevalencia puesto que se han excluido aquellos pacientes en edad pediátrica así como aquellos que asociaban un consumo crónico alcohol mayor de 20 gramos/día y aquellos que habían estado o se encontraban en tratamiento con interferones o análogos. Además, se trata exclusivamente de un registro a nivel hospitalario, no poblacional, durante un determinado periodo de tiempo. En cambio si podemos hablar de frecuencia que ha sido de 377 pacientes durante nuestro periodo de estudio. Sin embargo, debido a que hasta el momento no se han realizado estudios epidemiológicos del VHC en la provincia de Jaén, desconocemos tanto la prevalencia como incidencia del mismo en nuestra región, por lo que un aspecto a destacar de este trabajo es que sería la primera aproximación epidemiológica de la HCC hasta la fecha en nuestra región. Esto nos proporcionaría una base de datos lo suficientemente amplia para plantear futuros estudios relacionados con la HCC.

CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS, VIROLÓGICAS Y ANALÍTICAS DE ESTOS PACIENTES.

EDAD y SEXO.

En el estudio de Bruguera M et al.⁶ acerca de la situación de la hepatitis C en España, la prevalencia de anti-VHC aumenta con la edad; observándose una curva con 2 picos: uno en el grupo de edad entre 30 y 45 años, que incluiría casos que mayoritariamente se habrían infectado a partir del uso de drogas intravenosas cuando eran más jóvenes, y otro en el grupo de edad superior a 65 años, infectados seguramente por vía transfusional antes de 1990 o por el uso de jeringuillas no estériles para la administración de medicamentos antes de 1975, que fue cuando se introdujo el empleo de material de un solo uso. El grupo de edad intermedia, entre 45 y 65 años, habría estado menos expuesto que los otros dos a factores de riesgo. El grupo de edad de menores de 25 años presentó tasas de prevalencia anti-VHC bajas (entre el 0,3 y 0,7 %), lo que confirma que existe una menor difusión del virus a esta edad.

En la población norteamericana, las tasas de infección por el VHC más elevadas (4,1%) se encontraron en los adultos con edades comprendidas entre los 30 y 49 años, mientras que en estudios realizados en Europa y en la zona del Mediterráneo, las mayores tasas de prevalencia, se detectaron en los grupos de edad más avanzada. En algunas zonas del sur de Italia, la prevalencia en personas mayores supera el 30 %^{2,3,5}.

En cuanto al sexo, la mayor prevalencia del VHC en varones que en mujeres, podría ser debido a que la toxicomanía intravenosa es más frecuente en hombres, especialmente en el grupo de edad entre 25 y 45 años.

En nuestro estudio la edad media de los pacientes ha sido de $50,52 \pm 13,612$ años, con edades comprendidas entre los 20 y 88 años. De acuerdo a la distribución por edades, un 2,1% tenía menos 25 años, un 38,2 % entre 25 y 45 años, un 44 % entre 46 y 65 años y un 15,6 % tenía más de 65 años.

De los 377 sujetos incluidos, el 66 % eran varones y el 34 % mujeres. Estas diferencias en cuanto al sexo, son especialmente evidentes en el grupo de edad de 25 a 45 años (79,2% vs 20,8 %, $p < 0,0001$) y en el grupo de edad de 46 a 65 años (62,7 % vs 37,3%, $p < 0,0001$), resultados extensibles y con probable validez externa, muy similares a los recogidos por otros autores⁶.

GENOTIPOS.

La distribución porcentual por genotipo en nuestro estudio muestra un predominio muy acentuado del genotipo 1 con un 52,3 %, el genotipo 3 sería el segundo en frecuencia, seguido del genotipo 4 y el menos frecuente sería el genotipo 2. En 96 sujetos (25,5 %) se desconocía el genotipo. Estos resultados concuerdan con los publicados hasta ahora en nuestro país donde el genotipo 1 representaría más del 70 % de todos los casos, el genotipo 3 sería el segundo en cuanto a frecuencia, representando entre el 12 y el 17% de los casos. Los genotipos 2 y 4 se dan con una frecuencia mucho menor, entre el 1 y el 3% el genotipo 2 y entre el 2 y el 7% el genotipo 4⁶. (**Tabla 87**).

En otro estudio español llevado a cabo en el área de salud de Elche (Alicante), el genotipo 1b fue el más prevalente, representando el 38,4% de todos los casos, seguido de los genotipos 3a (23,1%) y 1a (13,5%) observándose una proporción mucho más elevada de pacientes con genotipo 3a, hecho probablemente relacionado con la ruta de transmisión ya que, los genotipos 1a y 3a se relacionan con los pacientes ADVP y el 1b con transfusiones o infecciones nosocomiales¹⁴⁹.

Un estudio de 2006 acerca del seguimiento de la prevalencia de genotipos del VHC en España durante nueve años muestra, considerando la edad de los pacientes, que en España parecen haber sucedido dos episodios recientes de importación de cepas del VHC¹⁵⁰. El primero supuso la diseminación de cepas de los genotipos 1a y 3. El segundo fue más reciente y supuso la introducción de cepas del genotipo 4. Estas diferencias significativas se observaron al considerar los incrementos significativos en las prevalencias de los genotipos 1a y 3 que se encontraron al comparar entre sí a los pacientes nacidos en 1941-1950 con los nacidos en 1951-1960. Para el genotipo 4, este

hallazgo se produjo, sin embargo, al comparar estos últimos con los nacidos en 1961-1970.

En 2011, Murcia et al.¹⁴⁶ como hemos comentado previamente, estudiaron la prevalencia de la infección crónica por VHC y sus genotipos en una población penitenciaria española. Se encontraron anticuerpos frente al VHC en 279 internos. La PCR del VHC confirmó infección en 250 internos, prevalencia del 34,2% (IC del 95%:30,8–37,8). La distribución de los genotipos fue la siguiente: el genotipo 1a en el 32,9% de los sujetos, el genotipo 3 en el 29,7% de los sujetos, el genotipo 1b en el 18,4% de los sujetos y el genotipo 4 en el 17,1% de los sujetos. La distribución de genotipos (con predominio de los genotipos 1a, 3 y 4) es muy diferente de la que se encuentra en la población general, como se ha demostrado en otros estudios en drogadictos que han puesto de manifiesto que el genotipo 1a es más frecuente que el genotipo 1b (predominante en los sujetos con riesgo desconocido o con antecedentes de transfusión). También ha sido claramente establecida la relación entre la drogadicción por vía intravenosa y los genotipos 3 y 4, lo que explicaría la prevalencia elevada de estos genotipos en este estudio.

GENOTIPO	Rodríguez JC et al. ¹⁴⁹	Bruguera M et al. ⁶	Murcia J et al. ¹⁴⁶	Nuestro estudio
Gen 1		70%		52,3%
1a	13,5%		32,9%	
1b	38,4%		18,4%	
Gen 2	1,8%	1-3 %		1,3%
Gen 3	23,1%	12-17 %	29,7%	12,2%
Gen 4	9,2%	2-7 %	17,1%	8,8%
Otros/desconocido	13,40%		1,2%	25,5%

Tabla 87. Distribución por genotipos en diferentes estudios españoles (elaborado por el autor).

Comparando estos resultados con la distribución a nivel mundial, el genotipo 1 sigue siendo el que presenta una mayor prevalencia en Estados Unidos y en buena parte de Europa. Sin embargo, el genotipo 2, que se ha descrito como prevalente en Estados Unidos, el Reino Unido, y especialmente Japón y Taiwan, es muy poco frecuente en nuestro medio¹⁵¹. El genotipo 4 ha sido descrito en Oriente Medio y en África Central, donde es responsable del 80% de las infecciones por VHC, y recientemente se ha extendido a varios países de Europa y Estados Unidos. Egipto tiene la mayor prevalencia de VHC en todo el mundo (15%) y la prevalencia más alta de infección por

genotipo 4, que es responsable de más del 90% de infecciones¹⁵². Los genotipos 5 y 6 han sido comunicados en Sudáfrica y en Hong Kong, respectivamente. Finalmente, el genotipo 3, particularmente el subtipo 3a es el más frecuente en la India y Pakistán^{48,153,154}. **(Figura 116)** Estas diferencias geográficas en cuanto a la distribución por genotipos podrían ser debidas a diferencias en los mecanismos de transmisión como podría ser una mayor transmisión horizontal o a una frecuencia mayor de conductas de riesgo aunque también se podría plantear por una diferencia racial.

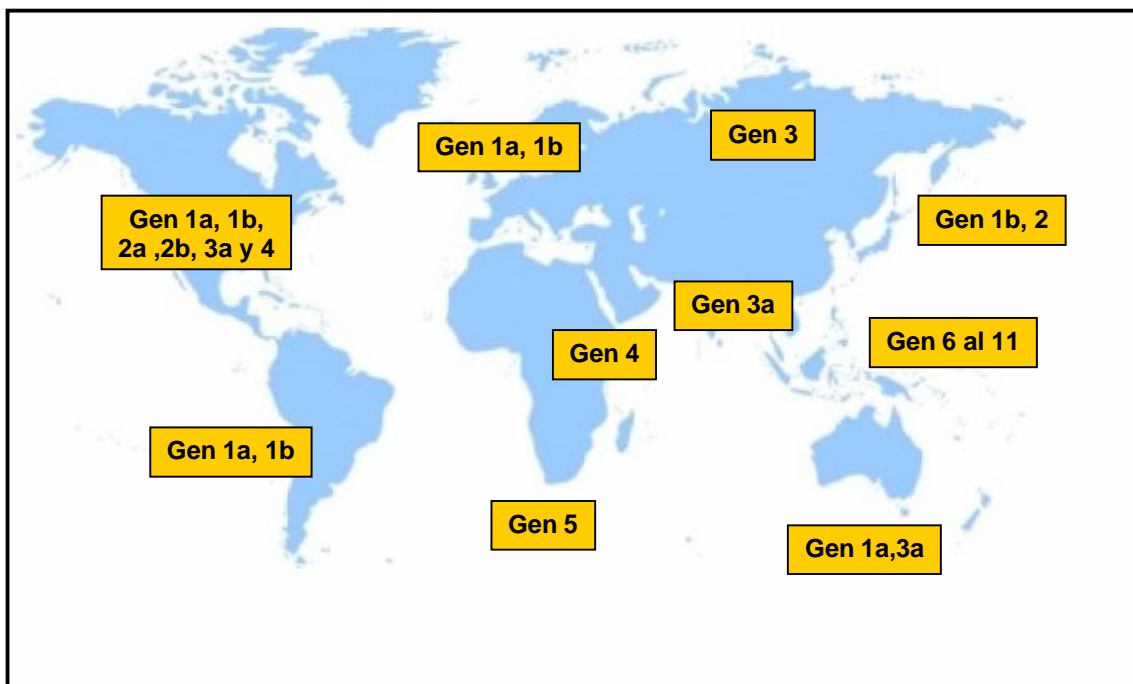


Figura 116. Distribución a nivel mundial de genotipos del VHC⁴ (reproducido con permiso).

GRADO DE FIBROSIS DE LOS SUJETOS INCLUIDOS MEDIANTE ÍNDICE FORNS, APRI Y FIB4 Y EL GRADO DE FIBROSIS GLOBAL A PARTIR DE LA COMBINACIÓN DE LOS ANTERIORES.

El modelo Forns determinó fibrosis leve (F0-F1) en 94 pacientes (24,9%) y fibrosis avanzada en 125 pacientes (33,2 %). En 158 pacientes no se pudo establecer el estadio de fibrosis (41,9 % valores perdidos).

El modelo APRI 1 (cuando empleaba 0,5 y 1,5 como puntos de corte) determinó fibrosis leve F0-F1 en 133 pacientes (35,3 %) y fibrosis avanzada en 91 (24,1%). El porcentaje de pérdidas fue 40,6 % (153 pacientes).

El modelo APRI 2 (cuando empleaba 1 y 2 como puntos de corte) determinó fibrosis leve (F0-F3) en 244 pacientes (64,7 %) y fibrosis avanzada (F4) en 66 pacientes (17,5 %). En 67 pacientes no se pudo determinar el estadio de fibrosis (17,8%).

El modelo FIB 4 determinó fibrosis leve F0-F2 en 171 pacientes (45,4 %) y fibrosis avanzada F3-F4 en 95 pacientes (25,2 %), con un 29,4 % de pérdidas (111 pacientes).

De los 377 pacientes incluidos, y mediante la combinación de los tres modelos anteriores, los pacientes fueron clasificados en dos grupos: 133 pacientes (35,3%) con fibrosis significativa (estadio de fibrosis igual o superior a F2) y 214 (56,8%) con ausencia de fibrosis significativa (estadio de fibrosis es igual o inferior a F1). En 30 pacientes no se pudo determinar la presencia o ausencia de fibrosis significativa.

Forns et al.¹¹², desarrollaron un modelo en una cohorte de 351 pacientes con HCC que no habían recibido tratamiento y que disponían de una biopsia hepática, que permitía identificar casi el 50 % de los pacientes afectados de una HCC sin fibrosis o con fibrosis periportal sin septos (F0-F1). Los autores de este estudio identificaron las siguientes variables como las más informativas sobre el grado de fibrosis hepática: cifra de plaquetas, edad, GGT y colesterol; permitiendo descartar la presencia de fibrosis significativa con un 96 % de seguridad cuando la puntuación es menor de 4,2, evitando la realización de una biopsia hepática percutánea en más de un tercio de los pacientes. La carga viral y el genotipo no fueron incluidos en el análisis final porque no estaban disponibles en un significativo número de estos pacientes. Además, no encontraron relación entre estas variables y la fibrosis hepática ni en el análisis univariante ni en el estudio multivariante. Por tanto se puede considerar este modelo genotipo-dependiente ya que los pacientes con genotipo 3 presentan niveles de colesterol más bajos.

Este modelo fue posteriormente validado y demostró una eficiencia similar, ya que permitía clasificar correctamente a la mitad de los pacientes. Su fiabilidad diagnóstica se ha validado también en diferentes cohortes.

El índice, conocido con el acrónimo **APRI** (AST to platelet ratio index)¹¹³, resulta todavía más simple, ya que se construye únicamente con el valor de la AST o GOT y el recuento de plaquetas. En el test de validación se obtuvo una AUC de 0,88 en la predicción de fibrosis significativa y del 0,94 en la predicción de cirrosis. Con dicho índice, utilizando los valores de corte apropiados, permite que se pueda identificar con seguridad a un 51% de los pacientes sin fibrosis significativa, con un ABC de 0,83 y un VPN del 86% cuando su resultado es inferior a 0,50.

A pesar de la diversidad de enfoques, casi todos los modelos alcanzan seguridades diagnósticas similares. En diferentes estudios de validación de estos métodos no invasivos bioquímicos, se detecta una pérdida en la capacidad diagnóstica comparada con la serie original lo que puede deberse a numerosos factores de confusión como la variabilidad geográfica, la falta de relación entre los parámetros analizados y la fibrogénesis o la variabilidad biológica pre y posprueba de cada uno de los parámetros. Así por ejemplo, en 2011, se publicó un meta-análisis, donde se evaluaban 40 estudios que comparaban APRI con la biopsia hepática, concluyendo que quizá el rendimiento de éste era menor que el descrito por Wai CT et al.¹¹³ en el artículo original¹⁵⁵. Sin embargo, APRI seguía teniendo una utilidad moderada para la predicción de la fibrosis en pacientes infectados por VHC. A pesar de que APRI muestra un menor rendimiento diagnóstico que algunos otros métodos no invasivos, sigue siendo la primera opción para valorar la fibrosis en pacientes con HCC en aquellas regiones con recursos sanitarios limitados.

Romero Gómez M et al.¹⁵⁶ en su estudio comparativo de los modelos APRI y Forns concluyen que la capacidad de estos modelos para la detección de fibrosis avanzada y exclusión de fibrosis significativa es similar. El uso combinado de ambos modelos permitiría obtener unos resultados excelentes en pacientes con genotipo 1. Este mejor rendimiento de ambos modelos en pacientes con genotipo 1 podría deberse a la mayor prevalencia de este genotipo en las series iniciales de pacientes estudiadas para el desarrollo de ambos modelos. Todo esto indicaría que deberían generarse modelos de predicción de fibrosis diferentes según los genotipos. Dada la simplicidad de los modelos de Forns y APRI, debería aconsejarse su uso combinado en la práctica clínica habitual, sobre todo en pacientes con genotipo 1, ya que permite determinar con exactitud la fibrosis, lo que evitaría la biopsia hepática en aproximadamente la sexta parte de los pacientes.

Por otra parte, se han desarrollado otros modelos que pueden ser útiles en la predicción de la fibrosis y la función hepática. El uso del **cociente GOT / GPT** es uno de los marcadores más conocidos en la literatura médica como un importante predictor de la presencia de cirrosis hepática. Park GJ et al.¹⁵⁷ y Imperiale TF et al.¹⁵⁸ observaron una correlación significativa entre el grado de daño hepático estructural y la relación GOT / GPT. Sin embargo, cuando se evaluó la capacidad diagnóstica de una relación GOT / GPT ≥ 1 en el diagnóstico de cirrosis, aunque este marcador mostró una alta especificidad, su sensibilidad era muy baja, lo que significa que la prueba tiene una baja probabilidad (36%) para dar un resultado positivo (GOT / GPT > 1) en presencia de cirrosis. Estos resultados contrastan con los aportados por Sheth et al.¹⁵⁹ y Giannini E et al.¹⁶⁰, quienes además de observar un índice de mejor correlación entre la fibrosis y la relación GOT / GPT, encontraron una alta sensibilidad y especificidad de este parámetro para el diagnóstico de cirrosis. Estas diferencias se han atribuido a la

inclusión de pacientes con niveles normales de GPT sin actividad inflamatoria o fibrosis y pacientes con abuso de alcohol en este último estudio.

Con posterioridad a estos modelos, se han publicado multitud de estudios similares, mayoritariamente en pacientes con HCC, y que han generado puntuaciones igualmente útiles. Entre ellos cabe destacar los siguientes: el modelo de Sud¹⁶¹, el modelo HALT-C¹¹⁴ y el modelo FIB-4¹¹⁶ en pacientes coinfectados por el VIH y el VHC.

A partir de la cohorte del estudio **HALT-C**, en el que se incluyó a 1.141 pacientes con HCC sin respuesta previa a un tratamiento antiviral, se diseñó un sencillo índice de predicción de cirrosis mediante los valores de la actividad de protrombina (INR), GOT, GPT y el recuento de plaquetas¹¹⁴. Con él se obtuvieron valores de AUROC de 0,78 y 0,81 en los modelos basal y de validación. El valor predictivo negativo, o sea, la posibilidad de descartar la presencia de cirrosis en los pacientes con un índice inferior a 0,2 fue del 86%, mientras que el valor predictivo positivo (posibilidad de cirrosis) en los sujetos con un índice superior a 0,5 alcanzó el 75%. Por otra parte, y también a partir de una cohorte de pacientes de un gran estudio multicéntrico internacional (**APRICOT**)¹¹⁵ diseñado con el fin de investigar la eficacia del tratamiento con peg-INF α 2a y ribavirina en pacientes con HCC coinfectados por el VIH, se construyó el **FIB-4**, un índice simple que incluye la edad, los valores de GOT y GPT, y el recuento de plaquetas¹¹⁶. Dicho índice se validó con posterioridad en una población de pacientes monoinfectados y alcanzó valores de predicción negativa (ausencia de fibrosis significativa) del 95% y positiva (presencia de fibrosis significativa F3/F4) del 82%.

Otro índice elaborado en Japón (**FibroIndex**) incluye el recuento de plaquetas y los valores de GOT y gammaglobulinas. Según sus autores, dicho índice permite valorar de forma longitudinal las variaciones de la fibrosis, lo cual podría resultar útil para medir el efecto de un supuesto tratamiento de ésta¹¹⁷.

Por otro lado, existen una serie de índices que combinan parámetros serológicos sistemáticos con marcadores de fibrogénesis. El primero de los índices de este grupo fue el conocido con el nombre de **Fibrotest®**, de uso común en Francia y del que hasta 2001 no se conocían sus componentes, ya que se realizaba únicamente, de forma comercial, en determinados laboratorios a partir del envío de una muestra de sangre del paciente. La fórmula de dicho índice incluye edad, sexo, GGT, bilirrubina, alfa-2-microglobulina, haptoglobina y apolipoproteína A1118. Los valores predictivos publicados de dicho índice son muy altos y alcanzan el 100% de predicción de ausencia de fibrosis y el 90% de presencia de fibrosis superior a F2.

El **Fibrometer®**, otro test similar también diseñado en Francia, incluye recuento de plaquetas, protrombina, edad, urea, alfa-2-microglobulina y ácido hialurónico¹¹⁹. Dicho

test consigue altos valores de predicción, tanto en hepatopatías de origen viral como de etiología alcohólica. Finalmente, **el Hepascore** diseñado en Australia, combina la edad, sexo, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico, bilirrubina y GGT, y también alcanza altos valores predictivos de fibrosis en pacientes con hepatitis C¹²⁰.

Uno de los tests que ha sido utilizado y validado más extensivamente es el **score ELF**, que incluye el propéptido aminoterminal de colágeno tipo III, ácido hialurónico y el inhibidor tisular de la metaloproteinasa 1 (TIMP-1). En el primer estudio de gran escala que evaluó su exactitud diagnóstica, más de 1000 pacientes con diferentes etiologías de hepatopatía crónica y biopsia hepática fueron incluidos. El estudio reveló que el test es útil para identificar estadio 3 y 4 de fibrosis, con un AUC de 0.77 para HCC, 0.87 para pacientes con hígado graso no alcohólico y 0.94 para pacientes con hepatitis alcohólica¹⁶².

Otra de las aproximaciones racionales para estimar el grado de fibrosis hepática es mediante la utilización de técnicas de imagen. La ultrasonografía, la TC o la RNM son capaces de detectar cambios en el parénquima hepático cuando hay una fibrosis significativa. Dado el menor coste de la ecografía, ésta es la técnica ideal desde un punto de vista teórico. En la cirrosis, la heterogeneidad del parénquima, la presencia de nodularidad y de signos de hipertensión portal (esplenomegalia, aumento del tamaño de la vena porta, circulación colateral, hipertrofia del lóbulo caudado) ayudan, sin duda, a realizar su diagnóstico. Sin embargo, la ecografía es todavía poco útil para identificar a los pacientes con estadios inferiores (F2-F3). Los resultados de la utilización de la eco-Doppler son quizás más interesantes: dado que la presencia de fibrosis grave se asocia con anomalías en el flujo vascular hepático, la medida de la velocidad de flujo en los vasos hepáticos se ha podido correlacionar con el grado de fibrosis. De modo similar, la aplicación de programas de análisis de imagen sofisticados que evalúan los cambios en la heterogeneidad del parénquima hepático durante las fases de relleno vascular, parecen incrementar la capacidad de la TC para identificar los diferentes estadios de fibrosis¹⁰⁰.

En los últimos años, la ET o Fibroscan[®], ha sido sin duda la técnica que más ha revolucionado el campo del diagnóstico no invasivo de la fibrosis. Se ha revelado cómo un nuevo método inocuo, sencillo, rápido, y objetivo para la evaluación de la fibrosis. En la mayoría de los trabajos se describe una asociación estadísticamente significativa entre la medida de la elasticidad hepática obtenida con FibroScan[®] y los distintos estadios de fibrosis obtenidos mediante el análisis histológico. Según los autores, la capacidad diagnóstica del FibroScan[®] sería mayor en la identificación de la fibrosis grave o la cirrosis, y resultaría menos exacta en el diagnóstico de los estadios iniciales e intermedios. A pesar de la posible interferencia de la esteatosis hepática en la medición

de la rigidez, varios estudios han demostrado que el diagnóstico de cirrosis utilizando Fibroscan® es adecuado también para pacientes con cirrosis alcohólica¹⁰³. En una serie que incluía 775 pacientes con hepatopatías crónicas, el valor diagnóstico de la ET (evaluado por el AUC) para identificar cirrosis fue de 0.95 en la población total, 0.96 en infectados por virus C, 0.90 en infectados por virus B y 0.96 en pacientes con esteatohepatitis alcohólica o no alcohólica. Los puntos de corte óptimos para rigidez hepática varían según la etiología, lo que podría explicarse la distribución diferente de la fibrosis hepática en la esteatohepatitis no alcohólica y en la hepatopatía alcohólica comparada con la hepatitis crónica¹⁶³. Otro aspecto importante es evaluar si la rigidez hepática correlaciona con la hipertensión portal. Un estudio de 165 pacientes con cirrosis demostró que FibroScan® podría ser útil para identificar pacientes con varices esofágicas: un valor de rigidez por debajo de 19 kPa fue altamente predictivo de ausencia de varices grandes, con un valor predictivo negativo de 93%¹⁶⁴. Los datos concuerdan con la buena correlación entre rigidez y gradiente de presión venosa hepática. Vizzuti F et al.¹⁶⁵ evaluó la habilidad de FibroScan® para predecir hipertensión portal severa (Hepatic Venous Pressure Gradient [HVPG] > 10 mmHg) en 61 pacientes con HCC. Hubo una fuerte correlación entre FibroScan® y HVPG ($r = 0.81$, $P < 0.0001$), aunque no óptima para valores por encima de 12 mmHg. Sin embargo, una rigidez hepática de 13.6 kPa tuvo una sensibilidad de 97% para identificar clínicamente hipertensión portal significativa (HVPG > 10mmHg).

Se han publicado algunos estudios en los que se comparan algunos de los métodos descritos con el fin de evaluar su eficacia individual o conjunta en la predicción de la fibrosis y poder mejorar su capacidad diagnóstica. De este modo, Bourliere M et al.¹⁶⁶ analizaron la fiabilidad diagnóstica de los índices **Fibrotest®**, **APRI** y **Forns** en una cohorte de 235 pacientes con HCC: las áreas bajo la curva para el diagnóstico de fibrosis significativa (F2) fueron de 0,81, 0,71 y 0,79, respectivamente. La combinación de estos modelos mediante un algoritmo diagnóstico permitió clasificar correctamente a 191 (81%) de 235 pacientes, lo indica que su aplicación en la práctica clínica diaria sería de gran utilidad. De forma similar, la combinación de **Fibrotest®** y **APRI** también demostró un incremento de la fiabilidad diagnóstica en una gran cohorte de pacientes italianos con HCC. En ella, Sebastiani G et al.¹⁶⁷, elaboraron un algoritmo secuencial para la evaluación de la fibrosis con biopsia denominado SAFE-biopsy, cuyo objetivo es reducir el número de biopsias hepáticas que son necesarias para clasificar correctamente la fibrosis y reducir al mínimo los casos mal clasificados. Por tanto, dos algoritmos fueron desarrollados con el objetivo de clasificar correctamente la fibrosis hepática, que son clínicamente significativas: (1) fibrosis significativa y (2) cirrosis. El sistema de algoritmos tiene por objetivo lograr una precisión de > 90% y reducir al mínimo los casos mal clasificados. El modelo APRI se ha utilizado como prueba de primera línea, ya que es barato y sencillo, mientras que FibroTest® se ha empleado

como prueba de segunda línea, ya que es más costoso y complejo. La biopsia hepática sólo se ha utilizado como prueba de tercera línea en aquellos casos en que los dos marcadores no invasivos no mostraron la precisión adecuada y / o en los casos no clasificados. El sistema de algoritmos paso a paso se basa en los valores predictivos de los marcadores individuales. En el algoritmo para fibrosis significativa (**figura 117**), un punto de corte $\leq 0,5$ para APRI tenía bajo VPN para excluir fibrosis significativa, mientras que un punto de corte $> 1,5$ mostraba un alto VPP para el diagnóstico de fibrosis significativa. De manera similar, un punto de corte de 0,49 de FibroTest® mostró alto VPP para diagnosticar fibrosis significativa, mientras que valores inferiores a 0,48 no podían con precisión excluir una fibrosis significativa. En el algoritmo para la cirrosis (**figura 118**), un punto de corte ≤ 1 para APRI mostró alto VPN para excluir cirrosis, mientras que el punto de corte > 2 no mostró suficiente VPP para el diagnóstico de cirrosis. De manera similar, un punto de corte de 0,48 y 0,75 de FibroTest® mostraron un buen VPN y VPP, respectivamente, para cirrosis, mientras que los valores intermedios no podían ser diagnosticados.

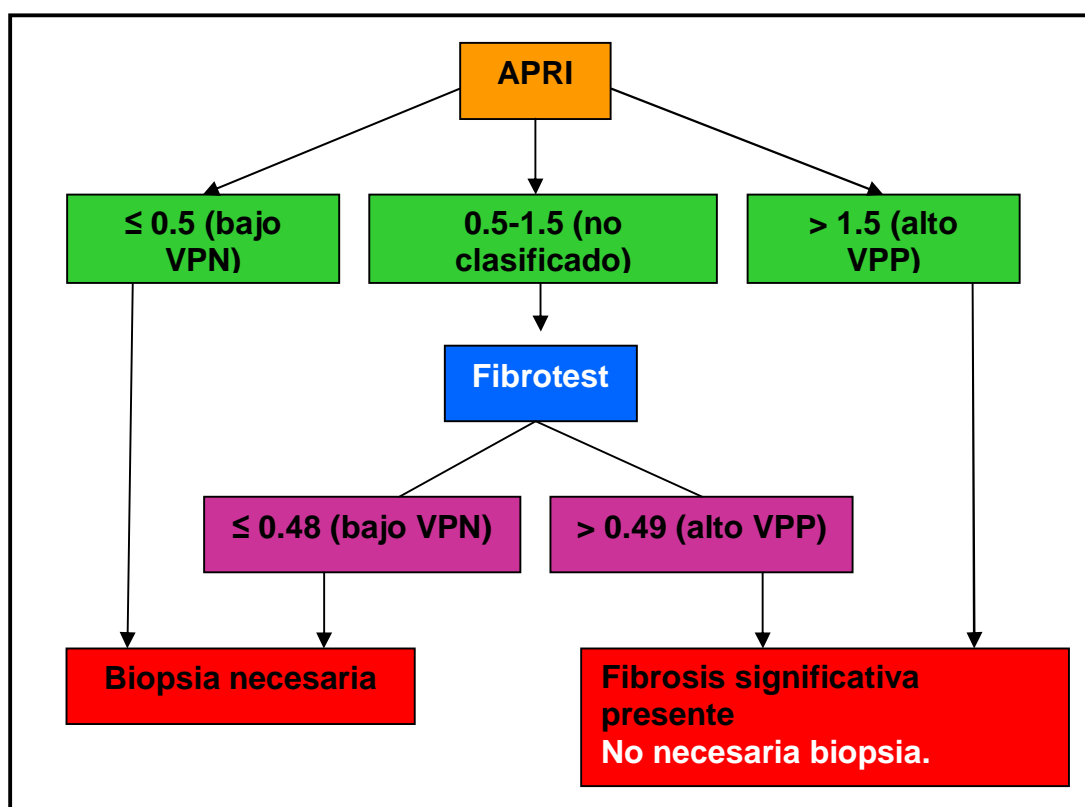


Figura 117. Algoritmo SAFE-biopsy para fibrosis significativa ($\geq F2$ para METAVIR)¹⁶⁷. Reproducido bajo licencia de "Elsevier".

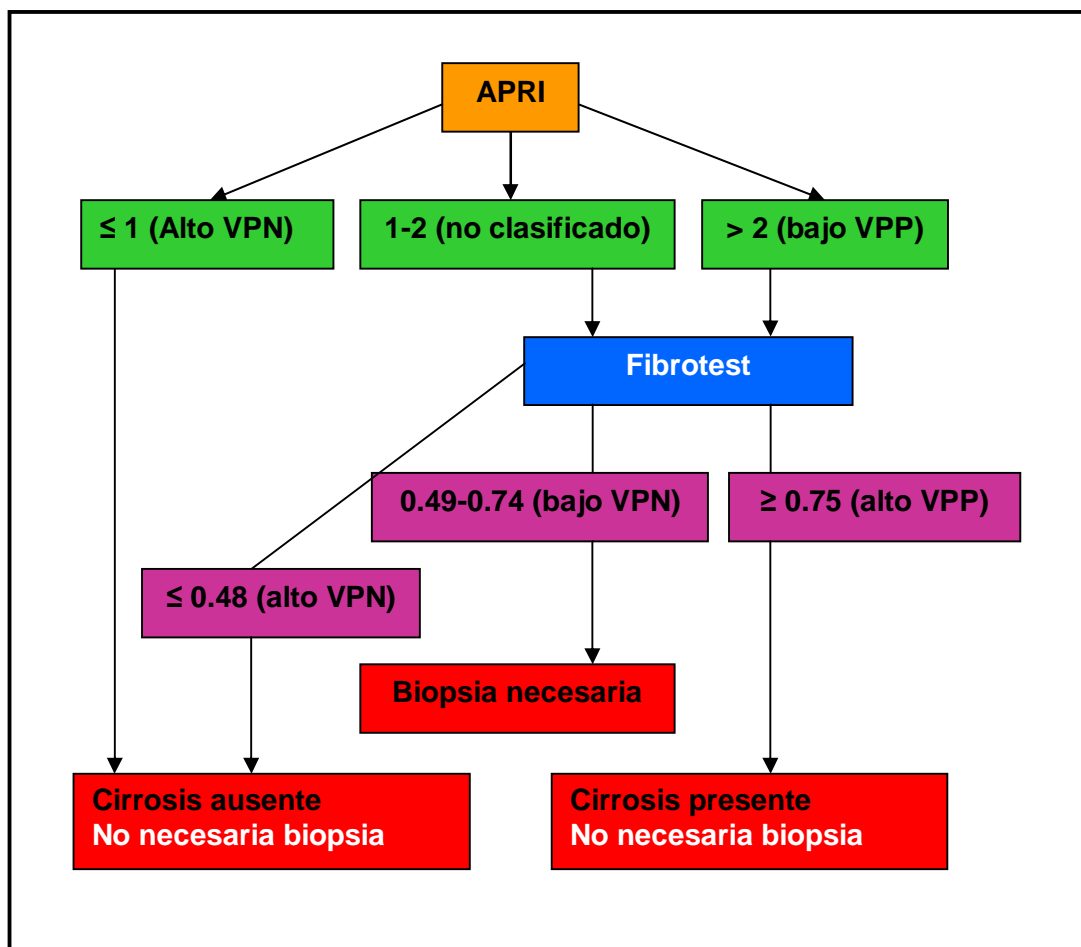


Figura 118. Algoritmo SAFE-biopsy para la cirrosis (F4 para METAVIR)¹⁶⁷. Reproducido bajo licencia de "Elsevier".

En uno de dichos estudios realizado en Francia, Castera L et al.¹⁰⁸ evaluaron en 183 pacientes con HCC, 136 pacientes (74%) con fibrosis superior o igual a 2, el poder diagnóstico del FibroScan® solo y en combinación con el Fibrotest® o el test APRI. La combinación del FibroScan® y el Fibrotest® mostró la mayor fiabilidad (AUC: 0,88) para identificar pacientes con fibrosis superior o igual a 2. El 95% de los pacientes con un valor de rigidez hepática superior o igual a 7,1 kPa mostraron fibrosis significativa (F_{≥2}) en la biopsia (VPP: 95%). Se observó concordancia entre el FibroScan® y el Fibrotest® del 70 al 80% de los casos y con la biopsia en el 84% de los pacientes con fibrosis significativa, en el 95% de los pacientes con fibrosis avanzada y en el 94% de los pacientes con cirrosis. Por tanto, con el uso combinado de FibroScan® y Fibrotest® (algoritmo Bourdeaux) se obtienen los mejores resultados con áreas bajo la curva de 0,88 para $\geq F_2$ y 0,95 para $\geq F_3$ pudiendo evitarse la biopsia hepática en 77% de los pacientes con fibrosis avanzada.

Un estudio reciente de colaboración entre Castéra L. y Sebastiani G., tiene por objeto comparar el algoritmo de combinación de FibroScan® y FibroTest® (algoritmo

Bourdeaux) y el SAFE-biopsy en 302 pacientes con HCC. Los resultados demostraron que el algoritmo Bourdeaux evitaba mayor número de biopsias para el diagnóstico de fibrosis significativa y presentaba una mayor precisión global para el diagnóstico de la cirrosis. Por otro lado, el algoritmo Bourdeaux utiliza FibroTest® y FibroScan® en todos los pacientes, mientras que SAFE-biopsy utiliza FibroTest® en un subgrupo de los pacientes que no están bien clasificados por APRI, lo que supone un menor coste. Los dos algoritmos podrían ser utilizados para la detección a gran escala de la fibrosis hepática y la elección del algoritmo puede estar basado en la disponibilidad de estos métodos. Sin embargo, su trabajo tenía dos limitaciones: en primer lugar, incluía un subconjunto relativamente pequeño de 302 pacientes de dos centros, y en segundo lugar, la prevalencia de fibrosis significativa o cirrosis en la población estudiada (76% y 24%, respectivamente) fue mayor que la observada en la población de referencia (48% y 12%, respectivamente) incluyendo más de 33.000 pacientes con HCC¹⁶⁸.

En otra comparación realizada en Bélgica en 2008, se confirma la similar eficacia del FIB-4 en comparación con Fibrotest®, siendo FibroIndex el menos preciso. A su vez, el índice de Forns es menos preciso que FibroTest® y FIB-4 para el diagnóstico de la cirrosis y el APRI también tiene menos poder discriminativo que FibroTest® y FIB-4 para el diagnóstico de fibrosis significativa, fibrosis avanzada y cirrosis¹⁶⁹.

En un estudio publicado en forma de resumen se comparó la eficacia de diferentes métodos, como el índice de Forns, el índice APRI, el Fibroscan® y marcadores de matriz extracelular, los cuales se analizaron individualmente o en combinación. La mejor exactitud diagnóstica en la predicción de fibrosis con un grado superior a 2 se obtuvo mediante la combinación del APRI y el Fibroscan® (AUROC 0,88), mientras que la combinación del índice de Forns con el Fibroscan® obtenía un mayor rendimiento en la predicción de la cirrosis (F4) (AUROC 0,90)¹⁷⁰.

Un estudio español publicado en 2010 evalúa la capacidad diagnóstica de fibrosis hepática de varios marcadores bioquímicos (APRI, FIB4 y Forns) y del Fibroscan®, usando la biopsia hepática como prueba de referencia en 154 pacientes con HCC. Los resultados de este análisis indican que todas las pruebas tuvieron una capacidad aceptable de predicción de la presencia/ausencia de fibrosis significativa ($FH \geq 2$) y de ausencia de fibrosis avanzada ($FH = 4$), en consistencia con estudios previos. Sin embargo, los resultados indican un grado de concordancia moderado con la biopsia hepática y valores bajos de sensibilidad, para $FH \geq 2$ ¹⁷¹. Varios autores han propuesto combinar estas pruebas para mejorar la detección de fibrosis significativa y cirrosis y se ha observado que de esta manera es posible evitar la biopsia hepática en hasta un tercio de pacientes con HCC. Los resultados de este estudio apoyan las recomendaciones de las « American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) Practice

Guidelines 2009», las cuales indican que los métodos no invasivos son útiles en definir ausencia o presencia de fibrosis avanzada pero sin reemplazar totalmente la biopsia en la rutina de la práctica clínica¹⁷².

Otro estudio también español, evaluó los dos modelos bioquímicos predictivos (APRI y FIB 4) en la población penitenciaria con HCC. Los índices bioquímicos analizados mostraron una elevada capacidad predictiva para detectar la presencia de cualquier grado de fibrosis hepática (mayor o igual a 1) en los internos con HCC. Aquéllos con un valor superior o igual a 0,55 en el índice APRI o superior o igual a 1 en el índice FIB4 presentaban una elevada posibilidad de tener fibrosis (VPP > 90%), pero con una sensibilidad diagnóstica baja (62 y 61%, respectivamente), es decir, entre un 38 y un 39% de los pacientes con algún grado de fibrosis no tuvieron diagnóstico. Ambos modelos se comportaron con escaso valor predictivo para identificar a los pacientes con fibrosis significativa (mayor o igual a 2) que serían los mejores candidatos al tratamiento de la hepatitis C. Por otra parte, tanto el índice APRI como el índice FIB4 resultan útiles para identificar a los pacientes que probablemente no presentan FH avanzada (VPN del 93 y del 88%, respectivamente)¹⁷³.

En 2011, Poynard T et al.¹⁷⁴ publicaron un meta-análisis acerca de los marcadores no invasivos conocidos para la valoración de la fibrosis hepática, tales como Fibrotest®, APRI, Fibrometer®, FIB4, HepaScore, ELF y Fibroscan®. Este meta-análisis permitió la validación del valor pronóstico de FibroTest® para predecir la supervivencia a los 5 años en pacientes con infección crónica por el VHC, infección crónica por VHB y hepatopatía alcohólica. El rendimiento de FibroTest® fue similar a los resultados de la biopsia hepática, que es el estándar de referencia. FIB4 y APRI también tenían un importante valor pronóstico en pacientes con infección crónica por el VHC, pero estos valores fueron más bajos que para FibroTest®.

En 2009, Smith J.O y Sterling R.K¹⁷⁵ publicaron una revisión sistemática acerca de los métodos no invasivos disponibles para la valoración de la fibrosis en la HCC y proponen un algoritmo combinado, reservando la biopsia para casos que no han podido ser clasificados. **(Tabla 88 y figura 119).**

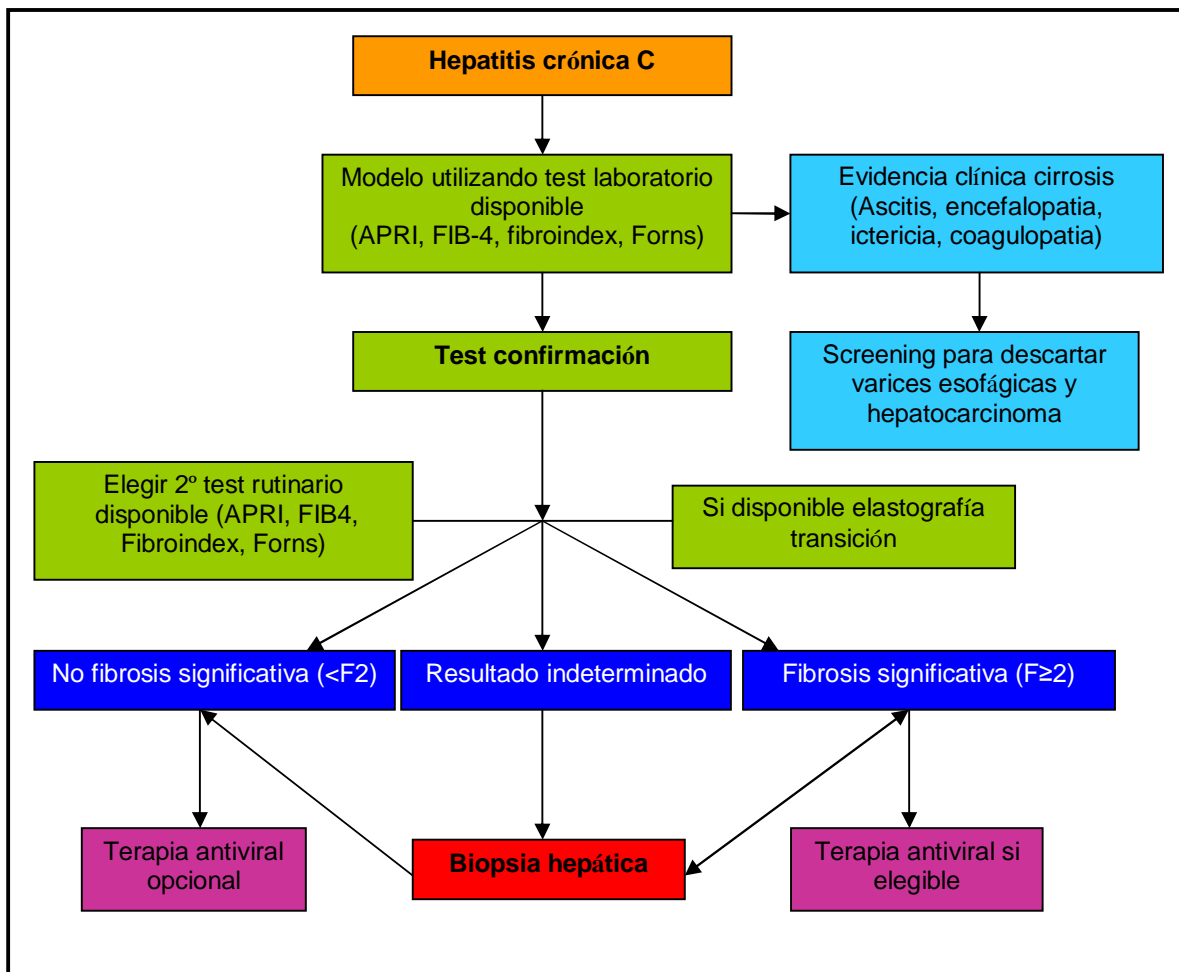


Figura 119. Algoritmo para valoración de fibrosis en pacientes con HCC¹⁷⁵. Reproducido bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

TEST	ESTADIO DE FIBROSIS	
	NO SIGNIFICATIVA (F0-F1/F2)	SIGNIFICATIVA (F2-F4)
APRI	≤ 0,5	≥ 1,5
FIB-4	≤ 1,45	≥ 3,25
FIBROINDEX	≤ 1,25	≥ 2,25
FORNS	< 4,2	> 6,9
ELASTOGRAFIA	≤ 7 kPa	≥ 8 kPa

Tabla 88. Algoritmo para valoración de fibrosis en pacientes con HCC¹⁷⁵. Reproducido bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

En 2011 Rizzo L et al.¹⁷⁶ presentan sus datos para un nuevo tipo de ultrasonidos basados en elastografía llamado ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse). Aunque FibroScan® emite una onda elástica de baja frecuencia, ARFI utiliza un concentrado de alta frecuencia del haz ultrasónico para producir una deformación mecánica en el punto focal del haz. La velocidad de la onda de corte provocada por esta deformación mecánica es una medida de rigidez hepática y fibrosis. Los autores no explican si ARFI debe ser realizado por un radiólogo o se puede hacer por el hepatólogo. ARFI parece tener un buen rendimiento, es reproducible, y es preciso para la estadificación de niveles intermedio y avanzado de fibrosis hepática. El AUROC de ARFI fue de 0,86 para predecir fibrosis METAVIR en la fase 2 o superior, 0,94 para la predicción de la fase 3 o superior, y 0,89 para la predicción de cirrosis, en comparación con 0,78, 0,83, y 0,80 para FibroScan®, respectivamente. Aunque estudios anteriores no encontraron diferencias significativas entre elastografía transitoria y ARFI. Rizzo L et al.¹⁷⁶ si mostraron que ARFI parece tener significativamente una mayor capacidad de discriminación que FibroScan® para las etapas intermedias de la fibrosis. Queda por saber si la distinción entre los estadios intermedios de fibrosis tiene relevancia clínica en cuanto al tratamiento del VHC:

En un reciente artículo publicado en 2012 se evaluó la exactitud de los dos algoritmos de fibrosis publicados (SAFE-biopsy y Bourdeaux), en un gran cohorte de 1785 pacientes con HCC¹⁷⁷. Estos autores, concluían que SAFE-biopsy y Bourdeaux, para diagnósticos de fibrosis significativa o cirrosis tenían un excelente rendimiento diagnóstico en la HCC. Sin embargo, en la práctica clínica, el algoritmo de fibrosis significativa y de cirrosis tiene que ser utilizado sucesivamente, lo que induce una disminución significativa en la precisión diagnóstica y un aumento significativo en la tasa de biopsias hepáticas requeridas. Una nueva clasificación no invasiva de la fibrosis combinando FibroScan® y Fibrometer® permitiría un completo procedimiento no invasivo (0% biopsia hepáticas necesarias) y preciso (seis clases de fibrosis) para el diagnóstico de la fibrosis hepática con una precisión diagnóstica del 87%; que no es significativamente diferente de los anteriores.

En resumen, podemos concluir que la estadificación de la fibrosis hepática es esencial en la práctica clínica diaria. Hoy en día la biopsia hepática ya no puede ser considerada como la herramienta exclusiva para el diagnóstico de la fibrosis hepática ya que los datos disponibles apoyan el uso racional de los métodos no invasivos para la estadificación de la fibrosis y especialmente de su combinación mediante algoritmos, que pueden reducir en un 50-80 % el número de biopsias necesarias para la correcta clasificación de la fibrosis. Sin embargo, la biopsia hepática no puede evitarse por completo, y se debe utilizar en aquellos casos en los que los métodos no invasivos presenten una pobre precisión diagnóstica. En la práctica clínica,

la elección del método diagnóstico y, especialmente, de los algoritmos de combinación dependerá de su rendimiento y disponibilidad en cada centro. La principal limitación de esta tesis lo constituye la medición de la fibrosis hepática mediante métodos exclusivamente serológicos. Sin embargo, esta tesis se comenzó a plantear en 2007 y en ese año el uso del Fibroscan[®], era muy limitado en España y prácticamente nadie lo poseía. Dado que no existe un algoritmo claramente establecido, en nuestro estudio, y en concordancia con lo anterior hemos utilizado los índices Forns, APRI y FIB4 de manera combinada, como hemos detallado en la metodología. Estos índices tienen capacidad para determinar grados de fibrosis leve o ausente y avanzadas, siendo menos precisos para los grados intermedios. La principal ventaja de estos índices es que incorporan variables habituales en el seguimiento de pacientes con HCC y sus fórmulas matemáticas son muy fáciles de aplicar. Nosotros recomendaríamos completar estos métodos serológicos con la elastografía de transición en aquellos centros donde esté disponible, y en caso contrario, como en el nuestro cuando se planteó esta tesis emplear los índices descritos.

DESARROLLO DE FIBROSIS HEPÁTICA.

EDAD.

Mientras que la duración de la infección ha demostrado ser un predictor de la progresión de la enfermedad, llama nuestra atención que la edad en el momento de la infección parece ser aún más importante. Múltiples estudios han demostrado que una mayor edad en el momento de la infección se correlaciona independientemente con un desarrollo más rápido de la fibrosis, incluso cuando se controla por la duración de la infección^{46,50,96}. Estos estudios confirman que es imposible establecer una tasa de progresión de la fibrosis sin tener en cuenta la edad en momento infección. En nuestro estudio la edad media de los sujetos incluidos ha sido de $50,52 \pm 13,612$ años, con edades comprendidas entre los 20 y 88 años. En el análisis univariante la edad se asociaba de forma significativa con la fibrosis hepática, siendo mayor en el grupo de pacientes con fibrosis. En el análisis multivariante se mostraba como una variable independiente predictora de fibrosis (OR = 1,206; IC del 95 %:1,084-1,342), hallazgos en relación con lo publicado en la literatura.

En 1997, Poynard T et al.⁴⁶ en el mayor estudio hasta la fecha con 1157 pacientes observó que la edad en que se adquiere la infección es un factor determinante de la evolución de la fibrosis, de tal modo que la tasa de progresión de la fibrosis era baja en

individuos menores de 20 años, intermedia en aquellos entre 21-40 años, se incrementaba en el grupo de edad entre 40-50 años y en aquellos por encima de 50 años presentaban las tasas más altas de progresión. Se demostraba que a menor edad en la adquisición de la infección mejor evolución de la fibrosis. El porqué de esta influencia obedece a varias razones, pero posiblemente son los factores inmunológicos y la pérdida de resistencia con la edad de las células hepáticas las más importantes. Además, después de ajustarlo por duración estimada de la infección, el grado de fibrosis era mayor en aquellos infectados con 40 años o más que en los infectados a edades más jóvenes ($p < 0,001$). (Figuras 120 y 121)

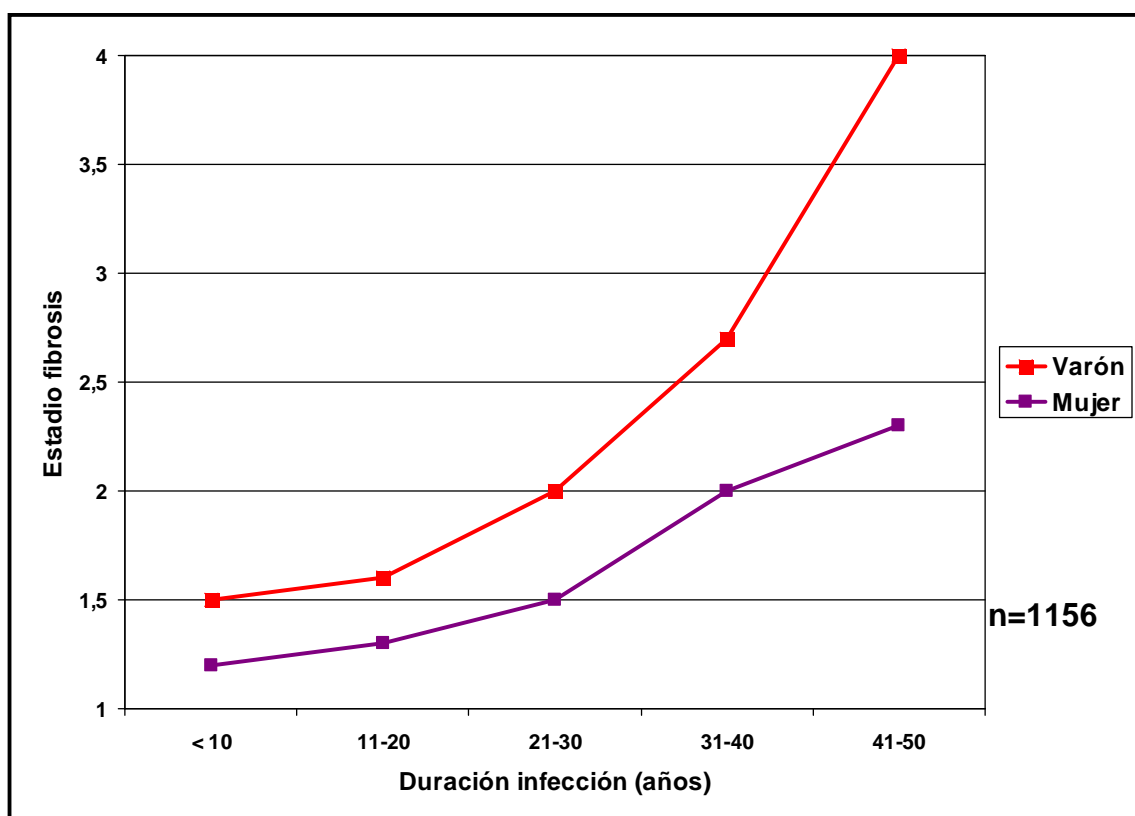


Figura 120. Asociación entre estadio de fibrosis y duración de infección (por sexos). Adaptado de Poynard et al⁴⁶ y reproducido bajo licencia de "Elsevier".

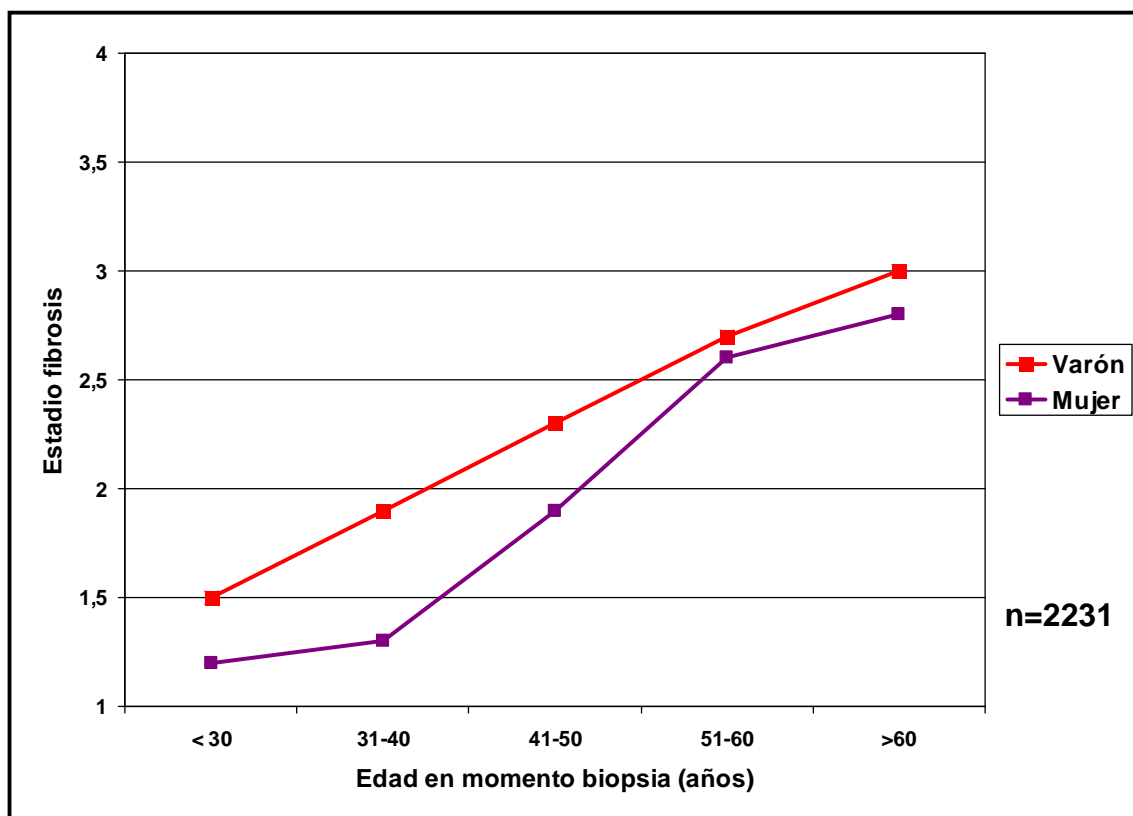


Figura 121. Asociación entre estadio de fibrosis y edad en momento biopsia (por sexos). Adaptado de Poynard et al⁴⁶ y reproducido bajo licencia de "Elsevier".

Posteriormente, en 2001 este mismo autor confirmó lo que hemos comentado anteriormente, que es imposible establecer una tasa de progresión de la fibrosis sin tener en cuenta la edad en momento de infección y se identificaron los 40 años de edad como un umbral importante para una más rápida progresión de la fibrosis¹⁷⁸. De este modo, un tiempo de evolución de 10 años tras una infección a los 40 era comparable con 40 años de evolución tras una infección a los 10 años. La principal limitación de estos estudios es que calculan la tasa de progresión de la fibrosis como el cociente entre el estadio de fibrosis y la duración estimada de infección en años. A su vez, la duración estimada de la infección es cuestionable, puesto que en ausencia de estudios de seguimiento de pacientes, consideran en la mayoría de casos la fecha de primera transfusión o del primer consumo de drogas intravenosas como fecha posible de infección, lo que puede no ser realmente cierto y excluyendo a aquellos pacientes con otros modos de infección^{178,179}. En nuestro estudio hemos tenido en cuenta estas posibles limitaciones por lo que hemos excluido como variable la duración estimada de la infección, utilizando la edad en el momento del diagnóstico que consideramos más precisa.

En la mayoría de los estudios realizados en niños infectados por el VHC se ha documentado una lenta progresión de la enfermedad, de tal modo que la infección

crónica por el VHC en la infancia induce cambios leves en el hígado con un bajo nivel de fibrosis y una baja tasa de progresión; si bien en los niños infectados a una edad mayor, la fibrosis progresa más rápidamente que los infectados en el momento del nacimiento. Sin embargo, se ha observado que la larga evolución de la infección adquirida en la infancia podría aumentar el riesgo de fibrosis. Por lo tanto, algunos niños infectados a temprana edad, en quien la enfermedad tiene una expresión leve, pueden desarrollar fibrosis en la edad adulta¹⁸⁰. Aproximadamente un 4-6 % de los niños con infección crónica por VHC presentan fibrosis avanzada o incluso cirrosis en la biopsia hepática, y de 4 a 5 niños cada año precisan un trasplante hepático en Estados Unidos¹⁸¹. Cómo afecta exactamente la edad en momento de la infección a la tasa de progresión de la fibrosis no está claro. Se ha sugerido que puede ser consecuencia de cambios en la función inmunitaria relacionados con la edad, incluso puede ser debido a cambios intrínsecos en la capacidad del hígado para tolerar la infección viral con la edad⁴⁷. Podemos afirmar que es concebible e incluso probable que exista una base biológica para una mayor tasa de progresión de la enfermedad en las personas mayores en el momento de la infección que en los individuos más jóvenes. Se ha propuesto que la respuesta inmune contra la infección por el VHC en las personas mayores pueda ser cuantitativamente y cualitativamente diferente de la de los pacientes más jóvenes.

Tras el trasplante de hígado, la progresión de la fibrosis y supervivencia del paciente se ha demostrado que se asocia con una mayor edad del órgano del donante, independientemente de la edad del receptor. El efecto de la edad del donante se correlaciona con los datos disponibles de la población inmunocompetente donde la edad en el momento de la infección es una importante determinante de la fibrosis. Un 14% de pacientes trasplantados que recibieron un órgano de un donante menores de 30 años, desarrollaba cirrosis del injerto; en contraste, un 45 y un 52% de los que recibieron el órgano de donantes entre 31-59 años o mayores de 59 respectivamente, desarrollaron cirrosis del injerto ($p < 0,0001$)⁶³⁻⁶⁵.

En 2004, Ryder SD et al.¹⁸² evaluó los factores que se asociaban a progresión de la fibrosis en 214 pacientes infectados que fueron biopsiados en dos ocasiones con un intervalo medio interbiopsia de 2,5 años, donde la edad en momento de biopsia inicial y estadio de fibrosis inicial eran las variables independientes que se asociaban a la progresión de ésta. Sin embargo, no excluyeron a los pacientes con consumo activo alcohol, ya que asumen que “consumían poco alcohol”, lo que consideramos un importante sesgo puesto que se ha demostrado que el alcohol influye en la progresión de la fibrosis.

Otro estudio que evaluó los factores asociados a la presencia de esteatosis y fibrosis en pacientes infectados, observó que los pacientes con fibrosis extensa (F2-F4) eran mayores que aquellos con fibrosis mínima o sin ella. Sin embargo, era una duración estimada de la infección mayor de 10 años la que aparecía como variable independiente

predictora de fibrosis en el estudio multivariante, con las limitaciones que ya hemos señalado en otros estudios¹⁸³.

En un metaanálisis con 3068 pacientes con HCC donde se evaluó la relación entre esteatosis y fibrosis, así como las variables asociadas, la edad en el momento de la biopsia se presentaba como variable independiente asociada a la fibrosis (OR = 1,04, IC del 95%: 1,03-2,06) y también en el grupo de pacientes con esteatosis⁷⁰.

Abraham R et al.¹⁵⁴ también observaron como la edad avanzada, en este caso estratificada en grupos de edad se correlaciona con el grado de fibrosis mediante el coeficiente de correlación de Spearman ($p = 0,001$), aunque en este caso la edad no había sido evaluada mediante estudio multivariante, a diferencia de nuestros resultados.

En 2010, en un estudio con 560 pacientes, se evaluaron las características de la HCC mediante la comparación de dos grupos de pacientes mayores o menores de 65 años, con un diseño transversal¹⁸⁴. Se observó que el 51% de los pacientes > 65 años presentaban una enfermedad hepática avanzada (cirrosis hepática o CHC) en comparación con el 26% del grupo de pacientes < 65 años ($p < 0,0001$). El análisis multivariante mostró que la edad > 65 años fue una variable independiente asociada con la enfermedad hepática avanzada. La principal limitación de este estudio es que no han evaluado la fibrosis, considerando enfermedad hepática avanzada a los pacientes con cirrosis establecida o hepatocarcinoma, obviando aquellos pacientes en estadios avanzados de fibrosis sin cirrosis.

En un estudio egipcio llevado a cabo por Ahmed AM et al.¹⁸⁵ para evaluar los factores asociados con la presencia de esteatosis y fibrosis, la edad ≥ 40 años se asociaba de forma independiente con la presencia de fibrosis en el análisis multivariante (OR = 5,9; IC del 95%: 1,7-20,6). El principal inconveniente es la escasa potencia del estudio con tan solo 92 pacientes y que han categorizado la variable edad (< o > 40 años), considerándola una variable cualitativa.

Otro estudio reciente, en este caso en pacientes con genotipo 2 y 3, la edad también se presenta como variable independiente predictora de fibrosis significativa en el análisis multivariante tanto en pacientes de regiones asiáticas como no asiáticas¹⁸⁶. En otros estudios como el de Khattab MA et al.¹⁵², en pacientes exclusivamente infectados con genotipo 4 la edad también se confirmaba como variable predictora de fibrosis

Es importante señalar que la edad medida en nuestro estudio ha sido en el instante de recogida de los datos y por tanto en el momento de evaluación de la fibrosis con fórmulas de Forns, APRI y FIB 4, (equivalente a la edad en momento de la biopsia de otros estudios). Una limitación de nuestro estudio, es que debido a la escasa fiabilidad de la información que teníamos sobre la edad en momento de la infección,

desconocemos el tiempo de evolución de la enfermedad desde el momento de infección. Por lo tanto, se nos puede plantear si la asociación observada entre la edad y la presencia de fibrosis significativa se relacionaba con una mayor edad en momento de la infección o con una mayor duración de la enfermedad. Sin embargo, aunque desconozcamos este dato, la edad y la duración de la infección se ha mostrado que son factores independientes, estadísticamente significativos de progresión de la enfermedad.

Como conclusión, podemos decir que la edad, basándonos en nuestros resultados y coincidiendo con los trabajos publicados por el resto de autores, se trata de un factor determinante de la evolución de la fibrosis, ya sea entendida como edad avanzada en momento de infección o como una mayor duración de la enfermedad. De este modo, a medida que aumenta la edad, aumentaría también el desarrollo de fibrosis.

SEXO.

A pesar de la similar prevalencia de la infección crónica por VHC entre hombres y mujeres, numerosos estudios han mostrado que los hombres progresan más rápidamente a cirrosis y tiene un riesgo incrementado de hepatocarcinoma^{46,47}.

Si bien no se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo, cuando comparamos al grupo de pacientes con y sin fibrosis hepática significativa, sí podemos observar una diferencia de porcentaje de fibrosis de casi el doble en varones que en mujeres no significativa probablemente debido al pequeño tamaño muestral (25,4% vs 13%, $p = 0,908$). Lo mismo ocurre con el grupo de pacientes cirróticos (11,9% vs 4,8 %, $p = 0,383$) y con hepatocarcinoma (2,1 % vs 0,8 %, $p = 0,756$).

El efecto del sexo femenino en el curso y evolución de la infección por VHC sigue siendo un tema controvertido en la literatura disponible y aborda diversos aspectos de la infección, tales como la eliminación espontánea del virus, la progresión de la fibrosis hepática, la respuesta a la terapia estándar, el desarrollo de complicaciones y resultados en el postrasplante hepático¹⁸⁷.

La tasa de cronicidad de la infección por el VHC parece ser menor en las mujeres, especialmente en las mujeres más jóvenes. El sexo masculino es un factor de riesgo independiente de progresión de la enfermedad, junto con el alcohol; si bien el alcoholismo es un problema claramente masculino^{46,178,179}. A pesar de la mayor sensibilidad de las mujeres a los efectos adversos del alcohol, no hay duda de que a pesar del alcoholismo existen diferencias intrínsecas entre hombres y mujeres en cuanto a progresión daño hepático. La evidencia de esto proviene principalmente de los análisis retrospectivos de dos grandes brotes de hepatitis C que se produjeron entre mujeres embarazadas que recibieron inmunoglobulina Rh contaminadas con el virus. En 17 años de seguimiento de 704 mujeres irlandesas con anti-VHC después de haber recibido la

inmunoglobulina contaminada, la tasa de cronicidad fue del 55%¹⁸⁸. La misma tasa de cronicidad del 55% se encontró tras 20 años de seguimiento de 917 mujeres alemanas igualmente infectadas tras recibir la inmunoglobulina contaminada¹⁸⁹.

Por el contrario, otros grandes estudios transversales no han demostrado diferencias de sexo en la tasa de cronicidad de la infección por hepatitis C. En el estudio Dionysos¹⁹⁰ obtuvieron tasas similares de cronicidad entre hombres y mujeres, mientras que en el estudio retrospectivo de Hissar SS et al.⁴⁸ el sexo masculino no se encontraba asociado a la fibrosis.

Poynard T et al.⁴⁶ encontraron que el sexo masculino se asociaba independientemente con la progresión de la fibrosis en 1157 pacientes infectados incluso después de tener en cuenta la edad y la duración de la infección. Este mismo autor en 2001, observa que esta asociación era significativa en estadios avanzados de fibrosis (F3-F4) pero no en estadios tempranos¹⁷⁸. Wright M et al.⁹⁶ también encuentra una asociación entre el sexo masculino con un incremento en la severidad de la fibrosis, así como con una mayor tasa de progresión de la misma. También Bochud PY et al.¹⁹¹, demuestra esta asociación con la tasa de progresión de la fibrosis, si bien este estudio se realizó exclusivamente en pacientes infectados con genotipo 3.

Cholet F et al.¹⁸³ observó que la fibrosis extensa (F2-F4) era más frecuente en hombres (71%) que en mujeres (29%) ($p = 0,001$) si bien esta no aparecía como variable independiente en el estudio multivariante. En nuestro caso, un 66,8 % de los pacientes con fibrosis significativa eran varones frente al 33,8% de las mujeres con fibrosis, aunque nuestros resultados como hemos comentado no eran significativos, probablemente por la falta de potencia estadística.

Sin embargo, también existen otros estudios como el de Matsumura H et al.¹⁹², donde si bien se observaba una mayor proporción de hombres en cada uno de los estadios de fibrosis (salvo en F3) así como en casos de hepatocarcinoma, sin embargo las diferencias no eran significativas, por lo que la tasa de progresión de fibrosis no difería en hombres y mujeres. Estos resultados concuerdan con los nuestros.

Sin embargo, en un estudio publicado en 2005, se observó que el sexo afecta a la progresión de la HCC solamente en sujetos jóvenes menores de 50 años. De hecho, las mujeres menores de 50 años mostraron menor actividad necroinflamatoria y menor estadio de fibrosis que los hombres de una edad comparable; mientras que las mujeres y hombres mayores de 50 años no mostraron diferencias en cuanto a la severidad de la enfermedad hepática. De hecho, en el estudio univariante incluyendo a todos los sujetos, el sexo no se asoció al desarrollo de fibrosis¹⁹³.

Di Martino V et al.¹⁹⁴, en otro estudio llevado a cabo en 157 mujeres con HCC, para evaluar el efecto estrogénico, sugieren que los estrógenos pueden tener un efecto protector a largo plazo, sobre las lesiones histopatológicas en las mujeres con HCC y el estado posmenopáusico se caracteriza por una progresión acelerada de la fibrosis. En

contraste con publicaciones anteriores, el embarazo no parece tener un efecto perjudicial sobre la histología hepática y de hecho podría incluso ser protector contra el avance de la fibrosis. Los anticonceptivos orales parecen seguros con respecto a la progresión de la fibrosis hepática en mujeres con HCC. Por último, la terapia hormonal sustitutiva puede tener un efecto antifibrótico, pero sus beneficios potenciales sobre la fibrosis hepática en las mujeres posmenopáusicas deben ser confirmados y debe sopesarse con los riesgos para la salud. Estas diferencias podrían ser por tanto explicadas por diferencias y cambios hormonales. De este modo, Villa E et al.¹⁹⁵ presentaron en su trabajo publicado en 2010, pruebas convincentes de que el estado menopáusico, quizás como consecuencia de un cambio en el equilibrio de las citocinas inflamatorias y/o cambios en el estado de los estrógenos, afecta a las tasas de respuesta en las mujeres sometidas a tratamiento para la infección por VHC.

En conclusión, si bien nuestros resultados no han sido significativos, estamos de acuerdo con el resto de estudios publicados de que el sexo femenino podría tener importantes implicaciones para la progresión de la fibrosis hepática en mujeres, así como su respuesta a la terapia, con un potencial efecto "fibrosupresor", en el período premenopáusico y un estado profibrogénico en la postmenopausia^{195,196}.

GENOTIPO.

En nuestro estudio no se han encontrado diferencias significativas en cuanto al genotipo en aquellos pacientes con y sin fibrosis significativa. Tampoco se han encontrado diferencias significativas cuando categorizamos en genotipo 1 y diferente a 1. Estos hallazgos coinciden con mayoría de estudios publicados en la literatura donde la influencia del genotipo en la probabilidad de progresión de la fibrosis no está totalmente aclarada. Mientras que en algunas publicaciones el genotipo no se correlaciona con el grado de fibrosis como las de Yamada M et al.¹⁹⁷, Benvegnù L et al.¹⁹⁸ y Zeuzem S et al.¹⁹⁹, también existen otras que afirman lo contrario, si bien estas últimas son menos numerosas.

Más recientemente, Adinolfi LE et al.²⁰⁰ en un estudio con 324 pacientes con HCC con positividad para carga viral y estudio genotípico, no encontraron diferencias significativas entre la distribución por genotipos y un mayor grado de fibrosis en la biopsia hepática. Tampoco encontraron diferencias significativas en los pacientes con y sin cirrosis hepática y la distribución por genotipos. Estos hallazgos están en concordancia con los nuestros puesto que tampoco hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes con ausencia y presencia de fibrosis significativa y los diferentes genotipos, ni tampoco entre los pacientes con y sin cirrosis. Destacar que

tanto en la población de Adinolfi LE et al.²⁰⁰ como en la nuestra presentamos un número elevado de pacientes, similar en ambos casos en cuanto a número, edad y sexo. La distribución por genotipos ha sido también similar con un mayor porcentaje de genotipo 1 en ambos casos. La principal diferencia es que el genotipo 2 era el segundo más frecuente con 88 pacientes en el estudio italiano y en nuestro caso tan sólo contábamos con 5 casos. Aunque, la valoración de la fibrosis se ha hecho con biopsia lo que puede resultar una ventaja con respecto al nuestro, sin embargo no valora los diferentes grados de fibrosis y las características en cada estadio de fibrosis, sino que tan solo calcula la media de fibrosis en cada uno de los grupos de genotipos. Por otro lado, también comprobaron que los pacientes infectados por el genotipo 2 mostraban una mayor actividad necroinflamatoria en la biopsia y los pacientes con genotipo 3 un mayor grado de esteatosis, si bien este no era objeto de nuestro estudio. Este mismo autor, en 2001, observó una mayor tasa de progresión de la fibrosis en un subgrupo de 19 pacientes infectados con genotipo 3 con esteatosis comparado con otros 12 pacientes con genotipo 1 sin esteatosis ($p < 0,004$)²⁰¹.

En el año 2000, otro estudio japonés tampoco encontró diferencias significativas en la prevalencia de un determinado genotipo del VHC entre los pacientes con diferentes estadios de fibrosis (F1, F2, F3, F4), y un grupo de pacientes con hepatocarcinoma. Tampoco encuentra diferencias significativas en la tasa de progresión de la fibrosis hepática por año entre las personas con diferentes genotipos del VHC, ni entre aquellos en diferentes estadios de la enfermedad. Sin embargo, la principal limitación del estudio es que solamente incluyeron pacientes con transaminasas elevadas, cuando es de sobra conocido que los pacientes con HCC presentan una fluctuación de los niveles de transaminasas, por lo que se estaría excluyendo un grupo de pacientes importante (hasta un 25-30 % pacientes con HCC), lo que supone un importante sesgo¹⁹².

Otras publicaciones similares a la nuestra donde se han evaluado los factores asociados a la fibrosis hepática y donde tampoco se ha encontrado asociación entre el genotipo y la progresión de la enfermedad hepática son los estudios de Livingston SE et al.²⁰², Lee YS et al.⁸⁵, Poynard T et al.^{46,178}, Zechini B et al.²⁰³...

Sin embargo, también existen otros autores que afirman que los pacientes con genotipo 1, el más prevalente en el mundo, tienen una enfermedad hepática más avanzada que aquellos pacientes infectados por otros genotipos²⁰⁴. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas y hay que señalar que la mayoría de los pacientes infectados con el genotipo 1 tenía una enfermedad leve. Los resultados que publicaron fueron que seis pacientes tenían enfermedad grave (que avanzaba a cirrosis dentro de los 10 años de la infección) y otros 14 pacientes tenían enfermedad leve. En el análisis por genotipos, la enfermedad grave estuvo presente en el 44,4% de los pacientes

infectados con genotipo 1 (4/9 pacientes), en comparación con el 18,2% de los infectados con genotipo 2 o 3 (2/11 pacientes). Estas diferencias no fueron significativas mediante el test exacto de Fisher, además del escaso número de pacientes. Por estos motivos no podemos considerar relevantes estos resultados desde el punto de vista estadístico.

De igual modo, Kobayashi M et al.²⁰⁵ en un estudio de seguimiento con 140 pacientes informaron de una débil asociación ($p < 0,05$) entre la progresión de la fibrosis y el genotipo 1, pero esta asociación desaparecía en el análisis multivariante. Esta asociación podría haber sido el resultado de variables de confusión tales como la duración de la infección, el consumo de alcohol y la edad en el momento de la infección. Además, la carga viral inicial se mostró como factor independiente en el análisis multivariante para el deterioro en el estadio de fibrosis, encontrando niveles de carga viral significativamente más elevados en pacientes con genotipo 1 que en pacientes con genotipo 2, no así con el hepatocarcinoma. Sin embargo, el genotipo si se relacionó con el desarrollo de hepatocarcinoma en el estudio multivariante.

En 2007, Harris HE et al.²⁰⁶ emplearon el análisis de regresión logística para investigar el efecto independiente del tipo de VHC en el aclaramiento del virus mediante la comparación de los pacientes que eran ARN-VHC negativo ($n = 86$) con los que fueron ARN-VHC positivo ($n = 508$). El mismo método se utilizó para investigar si el tipo de VHC se asociaba con el estadio histológico de la enfermedad hepática. La prevalencia del genotipo 1 entre los que aclaraban el virus fue del 69% y del 51% entre los que seguía siendo positivo; por tanto las infecciones por genotipo 1 eran más propensas a ser ARN-VHC negativo que los tipos no 1 (OR = 0,47, IC del 95%: 0,29-0,78, $p = 0,003$). Además, los pacientes con genotipo 1 también eran más propensos a estar asociados con estadios histológicos más avanzados en comparación con los tipos no 1 (OR = 2,03, IC del 95%: 1,07-3,83, $p = 0,03$). Sin embargo, existen autores que atribuyen la influencia del genotipo a un efecto cohorte, ya que los pacientes de mayor edad y hepatopatía más avanzada presentan una mayor prevalencia de genotipo 1 que la observada en pacientes más jóvenes, en los que aumenta la proporción de otros genotipos como el 2 y el 3.

Otros autores como Mahaney K et al.²⁰⁷ afirman que la infección con genotipo 2 es la que se asocia con un mayor grado de fibrosis, aunque paradójicamente presenta unos niveles más bajos de carga viral. En este estudio, la edad media de los pacientes infectados con el genotipo 2 era 10 veces mayor que la de los infectados con el genotipo 1, lo que podría explicar la histología hepática más severa vista en el caso del genotipo 2. Además, hay que añadir el escaso número de pacientes con genotipo 2 analizados (15 de un total de 98 pacientes). Lau JY et al.²⁰⁸ también obtuvieron resultados similares con el genotipo 2, una mayor actividad histológica con un menor nivel de carga viral.

Sin embargo, un metaanálisis publicado en 2006 con 3068 pacientes reclutados en 10 centros de 5 países, sugiere que la esteatosis y la diabetes son factores independientes de fibrogénesis en pacientes con genotipo 1. También se observó que los pacientes con genotipo 2 tenían más bajos estadios de fibrosis en la biopsia, si bien no emplearon tasas de progresión de fibrosis. Sin embargo, esta asociación entre el genotipo 2 y una menor progresión de la fibrosis, podría reflejar el cambio epidemiológico en la distribución de los genotipos en los últimos años, donde se ha producido un descenso en la prevalencia del genotipo 2. Esto último podría haber conducido a sobreestimar esta menor progresión de la fibrosis en estos pacientes⁷⁰.

Más recientemente, Abraham R et al.¹⁵⁴ ha publicado además de la mayor prevalencia del genotipo 3 en la India, que no había diferencias en la histología en cuanto a la severidad de la fibrosis ($p = 0,76$) ni en cuanto a la actividad histológica, mientras que la esteatosis severa solo fue vista en pacientes con genotipo 3. Además, los niveles de transaminasas no se correlacionaron ni con la actividad histológica ni con la fibrosis. Tampoco hubo correlación entre la carga viral y genotipo. Estos resultados podrían estar limitados por el menor número de pacientes con genotipos no 3 (22 pacientes) a la hora de encontrar diferencias, así como que se incluyeron pacientes que habían sido tratados con interferon (50 pacientes), lo que consideramos puede interferir en los resultados.

Otro estudio publicado en India en 2009 tampoco encontró diferencias en la progresión de la fibrosis cuando comparaba los pacientes con genotipo 3 y no 3 ($p = 0,979$)⁴⁸. Sin embargo, se han publicado estudios acerca de la asociación significativa entre el genotipo 3 y una mayor progresión de la fibrosis. Uno de ellos, es un estudio transversal sobre 314 muestras de biopsia de pacientes mono infectados por VHC, donde el genotipo 3 se mostraba como un factor de riesgo independiente de fibrosis y este se encontraba fuertemente correlacionado con el grado de esteatosis en el análisis multivariante¹⁸³. Se podría argumentar que ambos factores pueden superponerse en cierta medida, porque la esteatosis microvesicular es un hallazgo frecuente en los pacientes con genotipo 3 del VHC. Además, la mayoría de pacientes infectados con el genotipo 3 eran consumidores de drogas, y entre ellas el alcohol, que podría actuar como un importante factor de confusión. Por tanto, este efecto, podría ser debido a la mayor prevalencia de la esteatosis en pacientes con genotipo 3. Sin embargo también hay autores que opinan que es independiente de la esteatosis como Patel K et al.¹⁸⁶. Este autor, como se esperaba, publicó que la prevalencia de la esteatosis fue más alta entre pacientes infectados con genotipo 3, aunque no se observaron diferencias significativas en el estadio de fibrosis entre los individuos infectados por los genotipos 2 y 3.

Recientemente se han publicado dos estudios acerca de la asociación entre la fibrosis y el genotipo 3 en 2009 y 2011 respectivamente. Uno de ellos, el de Bochud PY et al.¹⁹¹,

se puede considerar el mayor estudio hasta la fecha acerca de la asociación entre la progresión de la fibrosis y los genotipos, con 1189 pacientes incluidos. Este estudio, ha sido el primero en estimar la fibrosis con tasas de progresión constante y específica así, como con curvas de incidencia acumulativa. Muchos estudios utilizan los datos obtenidos de la biopsia hepática en un punto del tiempo sin tener en cuenta la duración de la infección y no calculan las tasas de progresión de la fibrosis. Por esta razón, una de las limitaciones de nuestro estudio haya sido la valoración de los datos en un punto determinado del tiempo. En este estudio suizo, el genotipo 3 se asoció con una mayor progresión de la fibrosis en los tres métodos estadísticos empleados. Esta asociación, debido al gran tamaño de la muestra, persistía después de la estratificación por duración de la infección, grupos de riesgo y periodo de inclusión en el estudio. Sin embargo, estos resultados podrían haber estado influidos por el hecho de que muchos pacientes con genotipos 2 y 3 fueron tratados sin someterse a biopsia pretratamiento y que posteriormente fueron biopsiados por tratarse de casos severos incluyéndose en el estudio, lo que podría sobreestimar los resultados. Como anteriormente hemos señalado, se desconoce el mecanismo por el que el genotipo 3 promueve una mayor fibrosis, pero se sugiere que este estímulo fibrogénico ocurre independientemente de la presencia de esteatosis viral. Otra de las limitaciones de estos estudios, y la razón por la que nosotros no hemos estimado la duración de la infección, es porque se basan en el primer evento de riesgo, que puede no ser totalmente cierto (por ejemplo en usuarios de drogas intravenosas y politransfundidos).

En 2011 se publicó un metaanálisis que incluyó 16 estudios, donde evaluaron la asociación entre los genotipos del VHC y la progresión de la fibrosis. Los estudios fueron separados en dos grupos, aquellos (8 estudios) que incluían una sola biopsia y que calculaban la tasa de progresión como el intervalo entre fecha estimada de infección y fecha de biopsia hepática pretratamiento (9 a 21 años) y aquellos que calculaban la tasa de progresión como la media del intervalo entre dos biopsias (2 a 12 años). La OR para la asociación del genotipo 3 con la progresión de la fibrosis acelerada fue de 1,52 (IC del 95%: 1.12-2.07, $p = 0,007$) en estudios con una sola biopsia y 1,37 (IC del 95%: 0.87-2.17, $p = 0,17$) en estudios con dos biopsias. En conclusión, el genotipo viral 3 se asociaba con una más rápida progresión de la fibrosis en estudios con una sola biopsia. La asociación no fue significativa en los estudios de biopsias pareadas, aunque esto puede estar limitado por un importante sesgo de indicación, el tiempo de observación más corto y el menor tamaño muestral. De los estudios incluidos en este metaanálisis, 8 de ellos incluían solamente pacientes monoinfectados por el VHC, mientras que 2 estudios incluían ambos mono y coinfectados por VIH-VHC, otros dos estudios incluían solamente coinfectados y los otros cuatro no proporcionaban información acerca de la coinfección. Por tanto, solamente podemos considerar relevantes 8 estudios puesto que es de sobra conocido que el VIH en los pacientes con HCC acelera el desarrollo de

fibrosis y cirrosis, con una evolución clínica más grave, y por tanto puede enmascarar los resultados²⁰⁹.

Como conclusión, podemos decir que la influencia del genotipo del VHC en la probabilidad de progresión de la hepatitis no está en la actualidad totalmente aclarada. Si bien, las últimas publicaciones concluyen que existe una clara asociación entre el genotipo 3 y una progresión más rápida de la fibrosis en pacientes con HCC, hecho que podría tener importantes consecuencias en el manejo clínico de estos pacientes. Por otro lado, quizás sea el efecto metabólico diferente que tienen sobre la severidad de la fibrosis hepática los diferentes genotipos, lo que realmente influya en una mayor o menor progresión a fibrosis²¹⁰.

Consideramos que son necesarios estudios de seguimiento, que evalúen no solamente la asociación entre diferentes genotipos y los estadios de fibrosis, sino que también midan las tasas de progresión a fibrosis, teniendo en cuenta que dicha progresión no es lineal ni constante a lo largo del tiempo y que incluyan un número suficiente de pacientes de cada uno de los distintos genotipos. También es importante conocer el tiempo de duración de la infección, ya que en muchas ocasiones se asume el primer contacto de riesgo como inicio y no ser completamente cierto. Además, son necesarios diferentes métodos de evaluación de la fibrosis teniendo en cuenta las limitaciones de cada uno de ellos y una cuidadosa selección de los pacientes para eliminar aquellos factores de confusión que puedan interferir en los resultados.

CARGA VIRAL.

El valor medio de la carga viral ha sido $4149228,5033 \pm 5871049,25043$ UI/ml, con valores comprendidos entre 15 y 69000000,00 UI/ml. Hemos procedido a realizar dos categorizaciones de la carga viral, en la primera categorización donde se considera que hay carga viral alta, cuando los valores son superiores a 500.000 (69,5 %) y en la segunda se considera que la carga viral es alta, cuando los valores son superiores a 300.000 (76,4 %). Los niveles de carga viral fueron mayores en pacientes sin fibrosis significativa que en aquellos pacientes con presencia de fibrosis significativa en el análisis univariante ($p < 0,009$), aunque esta asociación desaparecía en el análisis multivariante. Lo mismo ocurría con la cirrosis hepática ($p < 0,0012$), aunque tampoco se asociaba en el estudio multivariante. Cuando categorizábamos la carga viral no se han encontrado diferencias significativas entre los pacientes con y sin fibrosis significativa, en ninguno de los dos casos. Si bien, podemos observar que existe un mayor porcentaje de pacientes con carga viral elevada en ambas categorizaciones, especialmente en el grupo de pacientes con ausencia fibrosis significativa. De este modo, entre los pacientes con ausencia de fibrosis, hay un mayor número de casos con carga viral elevada (67,3

% vs 32,7 %, $p = 0,295$) en la primera categorización y también en la segunda (75,2 % vs 24,8%, $p = 0,369$), si bien estos resultados no son significativos. En el caso de la cirrosis si bien al categorizar la carga viral tampoco se observaron diferencias significativas, podemos observar igualmente que existe una tendencia a que los pacientes sin cirrosis presenten una carga viral elevada (un 70,4 % del total de pacientes sin cirrosis presentan carga viral alta).

Numerosos investigadores han evaluado la relación entre la carga viral sérica y los niveles de daño hepático. La mayoría de estos estudios han encontrado que los niveles de ARN-VHC en suero tienden a aumentar con la severidad de cambios histológicos. Sin embargo, no se pueden extraer conclusiones claras de los estudios a la hora de evaluar la correlación entre carga viral y daño hepático, porque algunos autores afirman que si existe tal correlación y otros que no. Desafortunadamente, muchos de estos estudios no se pueden comparar a causa de las metodologías diferentes, no estandarizadas empleadas para evaluar ARN-VHC en el tejido hepático.

En 1995, Booth JC et al.²⁰⁴ publica que existe una tendencia a que los pacientes con mayores niveles de viremia presenten una enfermedad hepática más avanzada, si bien estos resultados no fueron significativos, además de la escasa potencia estadística del estudio (4 de 12 pacientes con enfermedad hepática severa tenían niveles elevados de viremia frente a 2 de otros 8 pacientes que presentaban niveles bajos).

Adinolfi LE et al.²¹¹ evaluaron la relación entre los niveles de carga viral en suero, hígado y en células mononucleares periféricas, mostrando que la carga viral sérica y hepática estaban fuertemente correlacionadas, no así con células mononucleares. Además, el incremento de los niveles de carga viral se asociaba con el índice de actividad histológica y los pacientes cirróticos mostraban niveles de carga viral sérica y hepática más bajos que los pacientes con HCC y un índice de actividad comparable. Por lo tanto, puede ser que los niveles hepáticos de ARN-VHC están subestimados en los pacientes cirróticos, a causa de la reducción de la masa hepática, debido al alto grado de fibrosis. Sin embargo, excluyendo a los pacientes con cirrosis, los resultados indican que los niveles séricos y hepáticos de ARN-VHC se correlacionan con la severidad del daño hepático necroinflamatorio. Esto puede ser debido al menos en parte, a un efecto citopático directo del virus. También es posible que tanto un efecto directo viral y una respuesta inmune mediada pueden jugar un papel en la patogénesis de la lesión hepática por VHC.

Este mismo autor, en otro estudio con 298 pacientes con HCC (de los cuales 100 estaban en fase de cirrosis), demostró una correlación entre los niveles de carga viral y la actividad necroinflamatoria y el estadio de fibrosis en aquellos pacientes con HCC pero sin cirrosis²¹². Por otro lado, no hubo correlación entre los diferentes genotipos y la carga viral, el estadio de fibrosis o el grado de actividad necroinflamatoria. Además, entre aquellos pacientes con una duración similar de la infección, aquellos con mayores

niveles de carga viral tenían significativamente un mayor grado de fibrosis hepática que aquellos con menor carga viral. En general, los pacientes cirróticos muestran unos niveles de carga viral similares a los de los pacientes con hepatitis crónica, pero cuando los pacientes cirróticos son comparados con aquellos casos de hepatitis crónica con similar índice de actividad inflamatoria, presentan sin embargo, niveles de carga viral más bajos.

Entre los autores que no encuentran relación entre la carga viral y el estadio de fibrosis se encuentra Poynard T et al.¹⁷⁸ que afirma que serían necesarios estudios longitudinales con biopsias hepáticas repetidas y determinaciones seriadas de carga viral para saber si la carga viral varía y si ésta al inicio de la infección podría ser predictora del desarrollo de fibrosis. También en 2001, en un estudio coreano, aunque los pacientes con peor histología tenían una tendencia a presentar mayores títulos de ARN-VHC, no hubo correlación significativa entre los títulos circulantes de carga viral y el grado de lesión hepática ($r_s = 0,2495$, $p = 0,058$)⁸⁵. Ninguno de los componentes individuales (necrosis piecemeal, inflamación portal, degeneración intralobular y fibrosis hepática) de la puntuación de HAI (Histological Activity Index) en relación con los niveles de ARN circulante del VHC mostró estadísticamente un valor significativo, si bien solo incluyeron 56 pacientes, careciendo así de potencia estadística. Consideran que las discrepancias entre los estudios pueden ser debidas en primer lugar, a que la prueba utilizada para cuantificar el ARN del VHC varía en los diferentes estudios. En segundo lugar, que la carga viral puede fluctuar y no es un parámetro estable, por lo que no puede reflejar el grado de daño hepático en un determinado sujeto. En tercer lugar, el VHC se replica en localizaciones extrahepáticas así como en el hígado. Así, una alta cantidad de VHC circulante no siempre implica un estado más activo de replicación viral en el hígado, ni un grado más severo de enfermedad hepática. Por último, la discrepancia puede resultar del intervalo de tiempo transcurrido entre la determinación de transaminasas (GPT) y ARN-VHC y la realización de la biopsia hepática. Tampoco se encuentra asociada la carga viral con la progresión de la fibrosis ($p = 0,404$) en el estudio de Hissar SS et al.⁴⁸ que incluía 355 pacientes con HCC.

En 2010, Livingston SE et al.²⁰² estudió la carga viral dentro de las posibles variables que se pueden asociar a la fibrosis, para ello categorizó la carga viral en 2 grupos en función de que presentasen $< o >$ de 500,000 UI/mL, no encontrando asociación entre ésta y la progresión de la fibrosis. Si bien los pacientes incluidos en el estudio eran aquellos que habían sido biopsiados, como parte de la evaluación para un posible inicio de tratamiento y por tanto pacientes seleccionados en base a unos mayores de niveles de transaminasas y de carga viral, lo que representa un importante sesgo de selección.

Por otro lado, Kobayashi M et al.²⁰⁵ en un estudio con 140 pacientes (96 eran genotipo 1b, 4 casos indeterminados y 36 pacientes con genotipo 2), observaron que los niveles

de carga viral eran significativamente más elevados en pacientes con genotipo 1 que en pacientes con el tipo 2 y que la carga viral era uno de los factores independientes del deterioro del estadio de fibrosis en la histología ($p = 0,0044$). Para explicar estos hallazgos, proponen que el genotipo tiene una mayor patogenicidad y que los niveles elevados de carga viral reflejarían la replicación del virus. Sin embargo, la carga viral no se asoció con el desarrollo de hepatocarcinoma en este estudio, aunque si el genotipo.

Wilson LE et al.²¹³ también observa que la progresión de la fibrosis se observa con más frecuencia en personas con mayores niveles de ARN-VHC, niveles más altos de GPT, GOT y niveles de GGT en la biopsia inicial en el análisis univariante. Después de la regresión logística multivariante, las variables que de manera significativa se mantuvieron asociadas con la progresión de la fibrosis fueron la elevación del nivel de ARN-VHC (7.2 log copias / ml) al inicio del estudio (OR ajustada = 3,04, $p = 0,02$) y la elevación de GPT (60 IU / mL) al inicio del estudio (OR ajustada = 2,70, $p = 0,04$). Para ello, se realizó un estudio prospectivo en 119 usuarios de drogas intravenosas, donde diversos factores podrían aumentar el riesgo de progresión de la fibrosis en esta cohorte, incluyendo el predominio de los hombres, la inclusión de algunos pacientes en tratamiento con INF α y las tasas relativamente altas de infección por VIH y el consumo de alcohol, en comparación con otros estudios.

Existen estudios que afirman que la carga viral es persistentemente estable en periodos prolongados de tiempo en pacientes con HCC no tratados²¹⁴. Sin embargo, las diferencias en cuanto a la carga viral varían ampliamente entre los pacientes incluso entre pacientes con idéntico genotipo. Estas observaciones sugieren que las diferencias interpersonales en cuanto a la carga viral pueden verse afectadas por factores ambientales y características bioquímicas. Basándose en esto, un estudio retrospectivo japonés llevado a cabo en 699 adultos con HCC infectados con los genotipos 1 y 2, investigaron los factores asociados con carga viral. En este estudio la carga viral se correlacionó con el grado de fibrosis hepática, pero solo en pacientes infectados en genotipo 2. Por otro lado, los pacientes con genotipo 1 presentaron unos niveles de carga viral más elevados en comparación con el genotipo 2. Sin embargo, estas diferencias en cuanto a la carga viral se observaron solamente en pacientes con fibrosis severa (F2-F4) pero no en pacientes con fibrosis leve (F0-F1); es decir que los niveles de carga viral fueron más bajos en pacientes con fibrosis hepática severa que en caso de fibrosis leve²¹⁵. **(Figura 122)**

En otro estudio japonés en pacientes con genotipos 1 y 2 exclusivamente, los pacientes con genotipo 1 igualmente presentaban mayores niveles de carga viral que los del tipo 2 y además, mostraron en el análisis multivariante con una estimación por pasos hacia adelante, que un menor nivel de ARN-VHC se asociaba con una fibrosis hepática más avanzada ($p < 0,05$)²¹⁰. En este último estudio, la valoración de la fibrosis se ha realizado

con muestras simples de biopsia valoradas por un único patólogo lo que puede afectar a la interpretación de los resultados de la fibrosis hepática. Además, el principal inconveniente de ambos estudios es que solo se han evaluado pacientes con genotipos 1 y 2, sin tener en cuenta otros tipos.

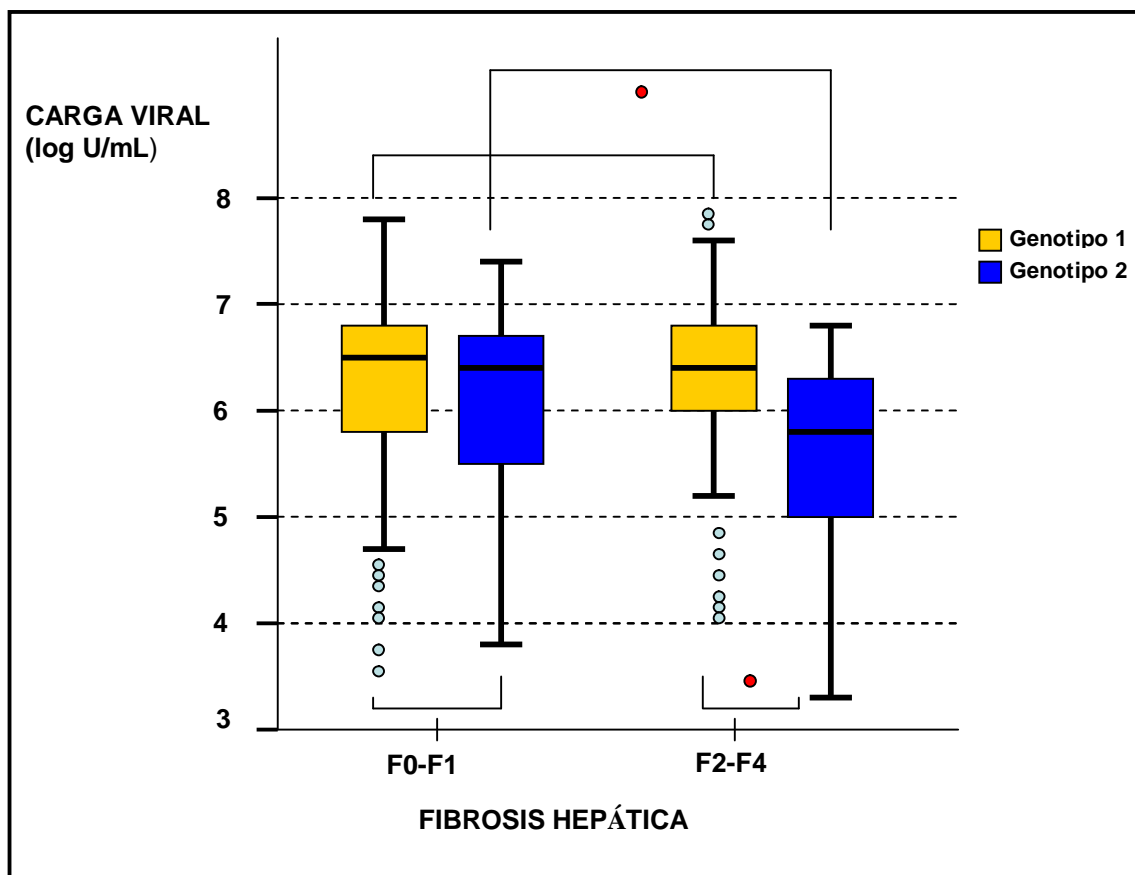


Figura 122. Asociación entre carga viral y estadio de fibrosis. • Significación estadística entre 2 grupos ($p < 0,001$). Adaptado de Sato S et al.²¹⁵ y bajo licencia de "Springer".

GLUCOSA.

El valor medio de glucosa en el grupo de pacientes con fibrosis fue significativamente superior al del grupo de pacientes sin fibrosis ($p < 0,0001$); hallazgos que concuerdan con lo publicado en la literatura, si bien estos resultados no alcanzan significación estadística en el estudio multivariante.

La mayoría de los pacientes en este estudio tenían una sola determinación de glucosa sérica en ayunas. Además no hemos realizado una evaluación directa de la RI. Por tanto, se podría argumentar que, en algunos pacientes, la elevación de glucosa en suero podría estar relacionada con otras circunstancias, tales como la ingesta de alcohol reciente o coinfecciones virales simultáneas. Sin embargo, hemos tratado de eliminar tales factores

de confusión, a diferencia de lo que ocurre en otros estudios. Por tanto, los niveles elevados de glucosa en suero sugieren que la glucemia alta no es un artefacto, sino que formaría parte de un estado de resistencia insulínica.

En un gran estudio llevado a cabo en 710 pacientes, la hiperglucemia estaba asociada con fibrosis avanzada y una mayor tasa de progresión de la fibrosis en la HCC, independientemente de la edad en el momento de la infección y la duración de la misma. Parte de la aceleración de la fibrogénesis relacionada con la edad, podría ser atribuible al desarrollo de la RI y la hiperglucemia que se producen con la edad avanzada. El impacto profibrogénico de la hiperglucemia es mayor que el del sobrepeso. La hiperglucemia parece desempeñar un papel en la perpetuación y la progresión de la fibrogénesis más que en la iniciación del proceso fibrótico. Por tanto, la medición de la glucosa sérica en los pacientes con hepatitis C puede proporcionar información sobre el riesgo de desarrollo de fibrosis hepática. Sin embargo, este estudio tiene un diseño transversal y no longitudinal; por tanto es imposible determinar si hiperglucemia en suero estaba presente en todos los pacientes al comienzo de la infección por el VHC o si apareció en el curso de la enfermedad hepática²¹⁶.

Son varios los estudios que además de evaluar la RI, también evalúan los niveles de glucosa en ayunas como en nuestro caso y la hiperglucemia pero en este caso definiéndola como diabetes mellitus, cuando los niveles de glucosa eran mayores de 126 mg/dL. En 2006, un estudio demostró una asociación positiva entre los niveles de glucosa alterados y el VHC, pero que no fue estadísticamente significativa después de ajustarla por edad y sexo. En este caso consideraron niveles alterados por encima de 110 mg /dL²¹⁷.

En el estudio de Ahmed AM et al.¹⁸⁵ no se encontró significación estadística con la diabetes mellitus en el análisis univariante aunque sí con la RI; si bien no se confirmó esta última en el análisis multivariante. En este caso se consideró diabetes mellitus cuando los niveles de glucosa eran mayores de 126 mg/dL. Otros estudios como el de Hsu CS et al.²¹⁸ en 2008 si demostraron que los pacientes con HCC tenían una glucosa alterada en ayunas en comparación con un grupo control no infectado ajustado por sexo y por edad. Sin embargo, algunos casos de diabetes habían sido incluidos en el estudio, por lo que los resultados podrían resultar no concluyentes. Este mismo grupo de trabajo en 2010 demuestra una asociación significativa de diabetes mellitus, obesidad, un mayor grado de esteatosis hepática, índice HOMA-IR y el nivel de GPT con fibrosis hepática avanzada en pacientes con genotipo 1 o 2 en el análisis univariante. Sin embargo, el estudio multivariante demostró una relación proporcional entre el nivel de glucosa en ayunas y la fibrosis hepática avanzada, pero no el índice HOMA-IR en pacientes con genotipo 1 o 2. Además, el hallazgo más significativo en este estudio es

que estas asociaciones están afectadas de diferente manera por los genotipos del VHC²¹⁰. Así, la fibrosis hepática se asociaba con una glucosa en ayunas superior en los infectados por el genotipo 1, mientras que con un IMC más alto en el genotipo 2. Otros estudios indicaron que la RI estaba presente en una parte importante de pacientes asiáticos infectados por genotipos 2 y 3, y podía estar asociada independientemente con la fibrosis hepática significativa¹⁸⁶.

Otros estudios muestran que la HCC en individuos infectados por genotipo 4 se asocia con intolerancia a la glucosa ($p < 0,001$) y con un mayor índice HOMA-IR ($p < 0,0001$) además de con un perfil lipídico favorable, que consiste en una elevación en el HDL colesterol y la reducción del colesterol total, LDL colesterol y triglicéridos, en comparación con adultos sanos emparejados por edad y sexo. Por otro lado, los pacientes con fibrosis severa tenían mayor edad, IMC, valores de HOMA, niveles séricos de adiponectina, mayor índice cintura / cadera, una actividad inflamatoria más severa y menores niveles de HDL y colesterol total que aquellos con fibrosis hepática leve ($p < 0,05$). En el análisis multivariante, el HOMA-IR, el grado de inflamación portal / periportal, el nivel de colesterol y la edad predijeron independientemente la severidad de la fibrosis¹⁵².

En 2012 se ha publicado una revisión acerca de este tema, donde RI es muy común en los pacientes con infección crónica por el VHC y se ha asociado con mayor severidad de la enfermedad, manifestaciones extrahepáticas y una disminución de la respuesta a la terapia antiviral. La RI representa la interacción entre la genética (hereditaria) y los factores ambientales (adquirida). Los principales factores adquiridos de RI incluyen: obesidad abdominal, el envejecimiento, la hiperglucemia, los medicamentos y recientemente la infección por VHC²¹⁹. **(Figura 123).**

La relación causal de la infección por el VHC y el desarrollo de RI se ha demostrado por el aumento de la prevalencia de la RI en la infección crónica por el VHC. Considerando que la prevalencia total de la RI es 10-25% de la población²²⁰, en la infección por el VHC llega a cifras que oscilan entre 30-70%^{221,222}. Por otra parte, la RI con infección por el VHC se incrementa en las primeras etapas de la enfermedad hepática, sin fibrosis hepática, y es en promedio significativamente más alta que en pacientes con hepatitis crónica B, ajustados para el índice de masa corporal y la edad⁷⁹.

La relación causal de la infección por el VHC y el desarrollo de RI también se ha demostrado por la mejora de RI después de la terapia con éxito en pacientes con HCC, mientras que no se observaba mejoría en los pacientes no respondedores²²³⁻²²⁵. Recientemente, diversos estudios han sugerido que la RI puede contribuir a la progresión de la fibrosis ya que ésta directamente puede estimular la proliferación de las

células estrelladas hepáticas, estimular la síntesis de colágeno I o induciendo la acumulación lipídica del hígado y la generación de radicales libres de oxígeno que pueden activar las células estrelladas, iniciando la progresión de la fibrosis a cirrosis²²⁶.

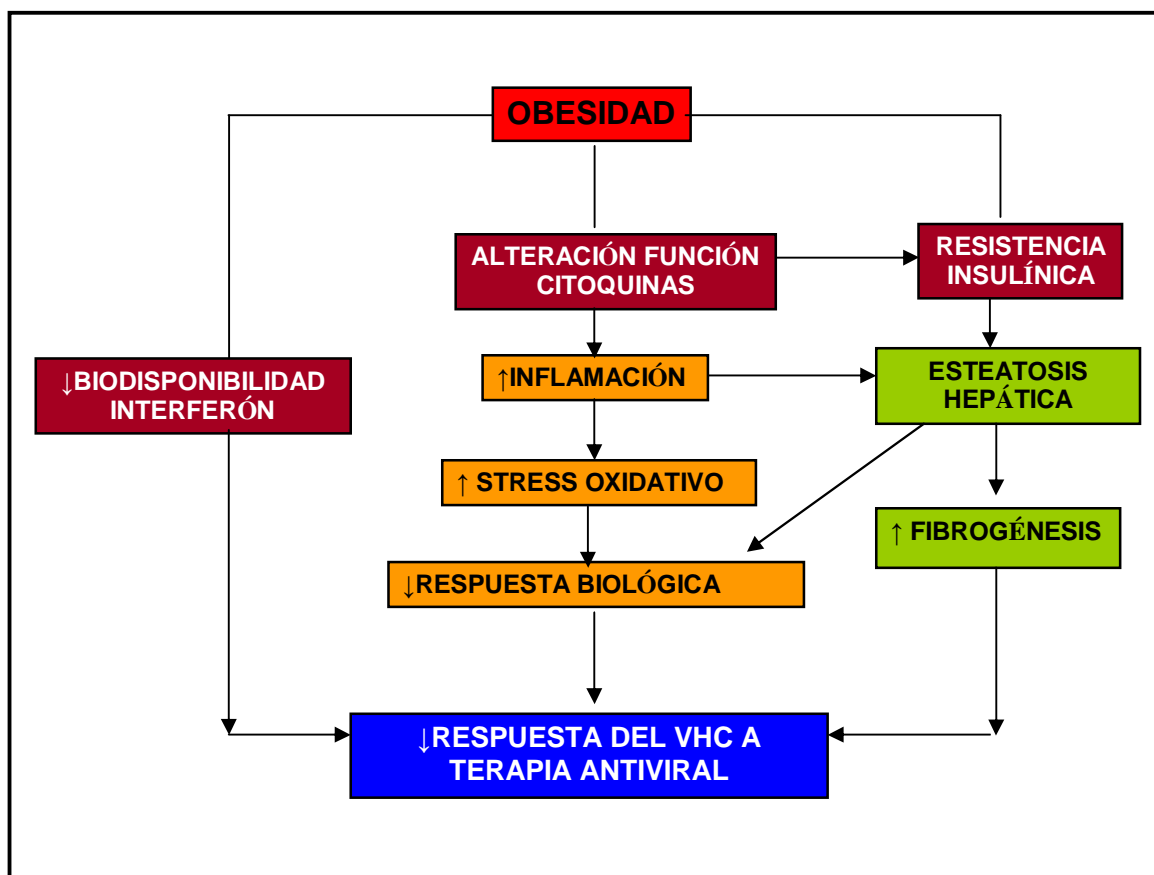


Figura 123. La RI se asocia con la obesidad y la disminución de la eficacia antiviral. Adaptado de El-Zayadi AR et al.²¹⁹ (Revista open access).

Por otro lado, los sujetos con VHC y diabetes tienen un mayor riesgo de desarrollar CHC. En un gran estudio cohortes, con 23 820 residentes en Taiwán y un seguimiento de 14 años, la diabetes se asoció con hepatocarcinoma, especialmente entre los individuos con infección por el VHC, con un menor riesgo entre los portadores del VHB o individuos no infectados²²⁷. La evidencia reciente sugiere fuertemente que esteatosis y la diabetes también puede aumentar significativamente el riesgo de hepatocarcinoma. La RI es reconocida como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de hepatocarcinoma en todo el mundo y el desarrollo de la diabetes relacionada con éste sugiere que RI tiene efecto directo sobre la carcinogénesis hepática, aunque los mecanismos precisos para este efecto siguen siendo poco claros²²⁸. Un estudio publicado en 2011 concluyó que la RI es inducida por el genotipo 4,

independientemente de la severidad de la enfermedad hepática; de tal forma que la RI comienza temprano en la infección y facilita la progresión de la fibrosis hepática y el desarrollo de hepatocarcinoma; estando además influida por la carga viral²²⁹.

Además, el uso de insulina exógena o sulfonilureas pueden empeorar la hiperinsulinemia. De este modo, recientemente se ha documentado una asociación entre el uso de sulfonilurea o insulina y el desarrollo de hepatocarcinoma en pacientes con infección por VHC. Aunque una relación causal entre insulina exógena y el desarrollo de hepatocarcinoma sigue siendo controvertido, la reducción de los niveles de insulina en suero es una estrategia de primera línea terapéutica para la RI²³⁰.

La RI es una de las características patológicas en pacientes con infección por el VHC y juega un papel crucial en el desarrollo de varias complicaciones y eventos asociados con la infección crónica del virus. La evidencia creciente indica que la RI asociada al VHC puede causar esteatosis hepática, fibrosis hepática, resistencia a tratamiento anti-viral, hepatocarcinogénesis y desarrollo de CHC, así como manifestaciones extrahepáticas. Por ello, la RI asociada con el VHC es un objetivo terapéutico en cualquier etapa de la infección. Sin embargo, las guías terapéuticas para la prevención de estas complicaciones derivadas aún no han sido establecidas. Poco se sabe sobre el efecto de los agentes antidiabéticos sobre la infección por el VHC, y una posible asociación entre el uso de insulina exógena o sulfonilurea con el desarrollo de hepatocarcinoma ha sido recientemente publicado²¹⁹.

Como conclusión, podemos decir que los niveles de glucosa alterados de nuestro estudio, de manera similar a lo publicado en la literatura, si bien no se ha mostrado como un factor asociado a la fibrosis, podría explicarse por un estado de resistencia insulínica, que si podría mostrarse como un factor determinante de fibrosis en futuros estudios.

ÁCIDO ÚRICO.

El ácido úrico es el producto oxidativo final del metabolismo de las purinas y se ha implicado recientemente en el desarrollo de hipertensión arterial, síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y renales. Sus niveles elevados pueden ser consecuencia pero también causa de disfunción endotelial, resistencia insulínica, estrés oxidativo e inflamación sistémica. Todas estas alteraciones son factores de riesgo de desarrollo y progresión de enfermedades crónicas hepáticas como la esteatohepatitis no alcohólica o la HCC^{231,232}. Sin embargo, no existen estudios que relacionen la hiperuricemia con el desarrollo de enfermedades crónicas hepáticas (**figura 124**).

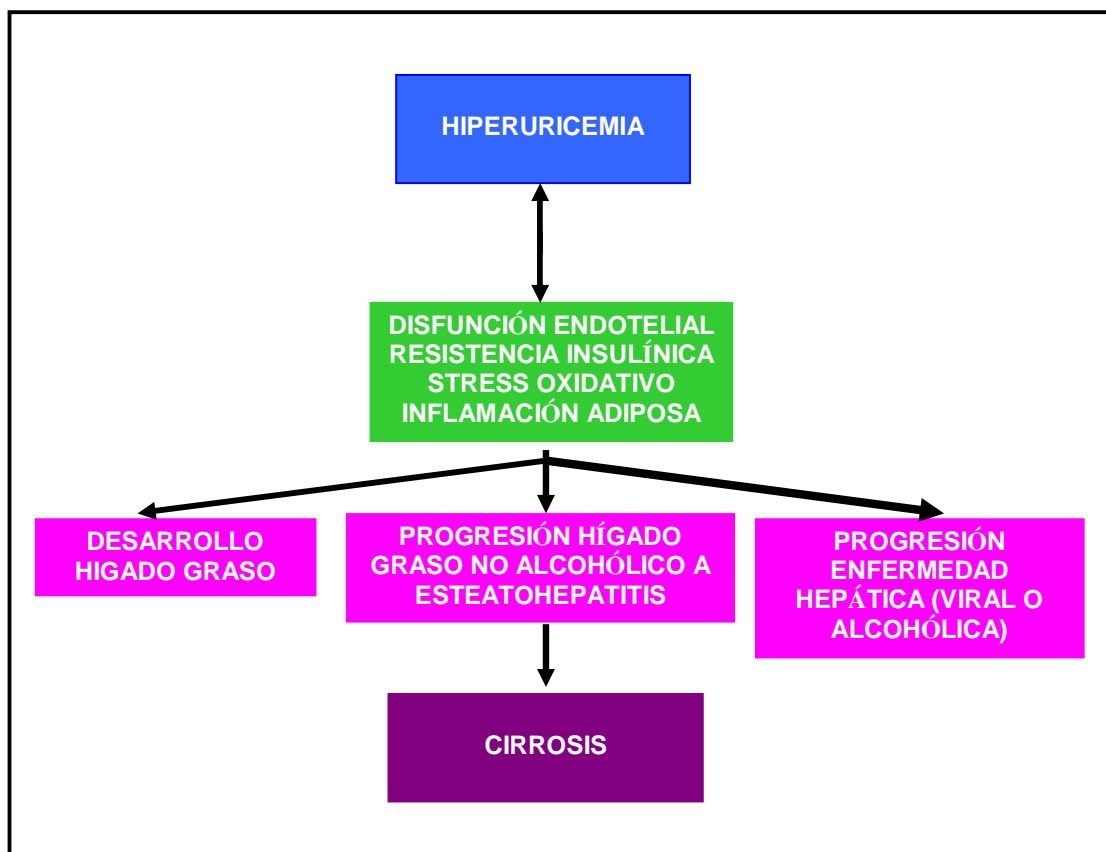


Figura 124. Representación esquemática de los mecanismos patogénicos subyacentes entre hiperuricemia y cirrosis. La flecha bidireccional sirve para indicar que no está claro si es causa o consecuencia. Adaptado de Afzali A et al²³³ y reproducido bajo licencia de “John Wiley and Sons”.

Recientemente se ha publicado en *Hepatology* un estudio observacional dirigido a evaluar si la hiperuricemia constituye un factor de riesgo de hepatopatía. Para ello se realizaron 2 estudios. El primero, de carácter prospectivo, evaluó si los niveles basales de ácido úrico se asociaban a largo plazo con la incidencia de hospitalización o muerte por cirrosis hepática. El segundo, transversal, evaluó la asociación existente entre la hiperuricemia y los niveles de GPT y de GGT, dos marcadores de inflamación hepática. Para el primer estudio se utilizaron datos de la encuesta National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I) que incluyó 5518 participantes con una media de seguimiento de 13 años. En el estudio transversal se emplearon los datos de dos encuestas, la NHANES 1988-1994 (n = 10993) y la NHANES 1999-2006 (n = 6186). El estudio demuestra que en comparación con los individuos con niveles de ácido úrico bajos (<4,8 mg/dl), aquellos con niveles elevados (>6 mg/dl) presentaron un mayor riesgo de hospitalización o muerte por cirrosis (HR: 2,8, IC del 95%=1,3-5,7). Se demostró asimismo que, a mayores niveles de ácido úrico mayores elevaciones de GPT

y GGT. Los autores concluyen que existe una clara asociación entre la hiperuricemia, el daño hepático necroinflamatorio y el desarrollo de cirrosis hepática²³³.

Este estudio es especialmente relevante ya que sugiere que el ácido úrico, un parámetro analítico rutinario, puede constituir un marcador o una causa de hepatopatía crónica. El carácter observacional de los estudios que constituyen el artículo impide esclarecer este último punto. Además otra de las potenciales limitaciones de estos estudios es que se desconoce la serología de los pacientes. Futuros estudios establecerán si dicha asociación es casual o tiene un peso clínico real, en cuyo caso la reducción farmacológica de los niveles de ácido úrico podría ser de utilidad en la prevención del desarrollo de hepatopatía crónica en pacientes con hiperuricemia.

En nuestro caso, el valor medio de ácido úrico ha sido superior en el grupo de pacientes con fibrosis, cuando lo comparamos con el grupo de pacientes sin fibrosis significativa en el análisis univariante ($p < 0,05$), no observándose en el estudio multivariante. En el caso de la cirrosis y el hepatocarcinoma, aunque los valores eran ligeramente superiores en el grupo de pacientes con cirrosis y con hepatocarcinoma asociado, los resultados no fueron significativos en ninguno de los dos casos, probablemente por falta de potencia estadística. Una cuestión crucial planteada por nuestros hallazgos es si hiperuricemia juega algún papel en causar directamente fibrosis hepática o si es sólo un marcador de un perfil metabólico adverso que promueve la progresión de la hepatitis viral. Los estudios transversales como el nuestro no pueden distinguir definitivamente entre estas dos posibilidades (causa o consecuencia), pero es tentador y, potencialmente, útil para especular sobre si la hiperuricemia puede ser una causa de fibrosis o forma parte de un síndrome metabólico ya que la hiperuricemia ha sido claramente asociado con el consumo de alcohol, la obesidad, la RI y la inflamación sistémica.

METABOLISMO HIERRO.

En nuestro estudio los valores medios de sideremia y ferritinemia en el grupo de pacientes con fibrosis fueron significativamente superiores al del grupo de pacientes con ausencia de fibrosis ($p < 0,05$). Hallazgos que concuerdan con lo publicado por otros autores ya que se conoce desde hace tiempo que los índices séricos de hierro y ferritina están elevados en más de la tercera parte de los pacientes con infección crónica por VHC. En muchas hepatopatías adquiridas, y especialmente en la HCC, la hepatopatía alcohólica y la enfermedad hepática no alcohólica por depósito de grasa, es frecuente detectar niveles elevados de ferritina sérica. Este hallazgo es menos frecuente en otras enfermedades hepáticas como la infección por VHB, hepatitis autoinmune o cirrosis biliar primaria exceptuando la hemocromatosis hereditaria⁵⁶. La ferritina es la proteína de depósito de hierro en los tejidos y sus niveles séricos están correlacionados con el

contenido corporal total de hierro, por lo que se puede considerar que las concentraciones elevadas de ferritina son un marcador de sobrecarga de hierro. En general, esto es cierto en ausencia de inflamación crónica, con muy pocas excepciones, pero la síntesis y liberación de ferritina están incrementadas en situaciones de estímulo inmunitario crónico y el significado exacto de la hiperferritinemia en la HCC no está plenamente esclarecido. Si la hiperferritinemia fuera consecuencia de una sobrecarga hepática de hierro, debería existir una correlación positiva entre ferritina sérica y hierro hepático. Sin embargo, esto sólo ocurre cuando una causa genética de sobrecarga férrica, como ocurre en portadores de mutaciones del gen HFE (especialmente la mutación C282Y) o de otros genes relacionados con la homeostasis del hierro. Por el contrario, si los niveles elevados de ferritina sérica fueran un marcador de un estado de inflamación crónica, cabría esperar que la ferritinemia volviera a la normalidad tras administrar tratamiento antiviral con éxito²³⁴. Además, la sobrecarga férrica es un hallazgo común en la biopsia de los pacientes con infección crónica por el virus C. Debido a que el depósito hepático de hierro se ha asociado con la progresión de la fibrosis así como la respuesta al tratamiento; algunos grupos han examinado si la sobrecarga férrica podría acelerar el daño hepático inducido por el VHC. Existen resultados conflictivos respecto al papel de la sobrecarga férrica en la progresión de la fibrosis hepática. No se ha hallado ninguna relación constante entre sobrecarga férrica y mutaciones en el gen HFE⁴⁷. Sin embargo, la sobrecarga férrica intrahepática está fuertemente asociada con la esteatosis inducida con el genotipo 3, mientras que su presencia con otros genotipos parece reflejar un estadio avanzado de la enfermedad²³⁵.

Estudios previos concluyen que el aumento del depósito hepático de hierro puede estar asociado con una fibrosis hepática más avanzada en los pacientes con infección por el VHC. El valor de ferritina sérica, un predictor independiente de fibrosis hepática severa en pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C, puede determinar el depósito de hierro hepático y la severidad de la fibrosis⁵⁶⁻⁵⁸.

Por otro lado, en un estudio publicado en 2006 no se encontró ninguna asociación entre los índices de hierro sérico o depósito hepático de hierro y el grado de fibrosis hepática o actividad inflamatoria en pacientes con HCC. En el análisis de regresión logística multivariante, solamente la edad en el momento de la biopsia se mostró como un predictor independiente de fibrosis severa. **(Tabla 89)**. Sin embargo, se mostró que el depósito hepático de hierro se asoció con los valores de GPT alterados y los índices de hierro sérico. Los niveles de ferritina también mostraron una correlación con los valores de GPT séricos²³⁶. **(Tabla 90)**. Es decir, la alteración bioquímica hepática se puede determinar por el depósito hepático de hierro o los niveles séricos, pero el daño histológico no se puede^{236,237}.

VARIABLE	ODDS RATIO	IC del 95%	p
EDAD	1,312	1,020-1,688	0,035
SEXO MASCULINO	14,138	0,835-239,266	0,066
INCREMENTO HIERRO SÉRICO	0,834	0,081-8,595	0,879
DEPÓSITO HIERRO HEPÁTICO	1,584	0,067-37,349	0,775
CARGA VIRAL	1,412	0,923-2,161	0,112

Tabla 89. Análisis de regresión logística multivariante de predictores de fibrosis hepática severa. Adaptado de Lin TJ et al.²³⁶ (Revista open access).

Esto es consistente con hallazgos previos de que el descenso de los niveles de GPT y GOT después de la flebotomía no está asociada con un cambio histológico en la actividad inflamatoria o la fibrosis. El mecanismo por el que el hierro se acumula en algunos pacientes con HCC no está claro. Si esta acumulación de hierro es causa o consecuencia de lesión hepática es desconocida. Estudios anteriores habían informado de un correlación positiva entre la concentración de ferritina sérica y el nivel de GPT en pacientes con HCC. Puesto que el nivel de hierro en suero se correlacionó significativamente con el valor de GPT, era probable que el exceso de hierro podría estar relacionado con su liberación de los hepatocitos destruidos como consecuencia de la lesión hepática asociada al VHC. Esto sugiere que los parámetros de hierro en pacientes con HCC actúen ya sea como marcadores del estado inflamatorio crónico del hígado o de la actividad citolítica, pero no reflejen directamente la progresión de la fibrosis hepática. Además, ferritina, hierro e índice de saturación transferrina eran todos excelentes predictores de la presencia de hierro hepático en pacientes con HCC²³⁷.

VARIABLE	GPT	HIERRO	SATURACIÓN TRANSFERRINA	INDICE INFLAMACIÓN	INDICE FIBROSIS
COEFICIENTE SPEARMAN	0,531	0,467	0,556	-0,085	0,317
P	0,003	0,011	0,002	0,659	0,094

Tabla 90. Correlaciones entre niveles ferritina con datos laboratorio, actividad inflamatoria e índice de fibrosis. Adaptado de Lin TJ et al.²³⁶ (Revista open access).

Guyader D et al.⁵⁹ encontró que la hiperferritinemia, presente en el 27% de los casos, se asoció con los depósitos hepáticos de hierro sólo en el 46% de los mismos. El contenido de hierro hepático se elevó en un 17%, y se correlacionó con la edad, el sexo masculino, y la ingesta de alcohol. En el análisis univariante se mostraba una fuerte asociación

entre el hierro y la fibrosis hepática, que desapareció en el análisis multivariante después del ajuste por variables de confusión. De acuerdo con los resultados de este estudio, el hierro hepático debe ser considerado más como un marcador de la gravedad de la enfermedad que como un factor de por sí fibrogénico. También concluyeron que era inadecuado considerar que la ferritina pueda reflejar el contenido hepático de hierro. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, no incluyeron pacientes en fase de cirrosis avanzada porque fueron seleccionados a partir de una biopsia hepática única. Se ha demostrado que en los pacientes con cirrosis avanzada por VHC el contenido de hierro hepático aumenta con la severidad de la enfermedad. Por tanto, es probable que la sobrecarga férrica sea un acontecimiento tardío y probablemente relacionado con otros mecanismos como la insuficiencia hepática o la hipertensión portal.

Fujita N et al.²³⁸ sugirió que el aumento de hierro hepático puede reducir la respuesta al tratamiento antiviral. Sin embargo, en otros tres estudios en los que se midieron los niveles hepáticos de hierro, el hierro hepático en pacientes no respondedores no fue diferente a los respondedores²³⁹⁻²⁴¹. Hofer H et al.²⁴⁰ estudiaron las biopsias hepáticas de 169 pacientes sin tratamiento previo a los que se les administraron terapia antiviral. No hubo diferencias en las concentraciones medias de hierro hepático entre los respondedores y no respondedores. En otro estudio de 112 pacientes con HCC sometidos a tratamiento antiviral, no hubo tampoco diferencias en la media de las concentraciones de hierro hepático pre-tratamiento entre los respondedores y no respondedores²⁴¹. Así, los niveles de hierro hepático, cuando se evaluaron mediante métodos más precisos para la cuantificación del hierro hepático, no parecen influir en la respuesta a terapia antiviral.

Ladero et al.²³⁴ en 2009, consideró que en su estudio la ferritina sérica desciende no sólo a los valores normales, sino por debajo de los basales, 24 semanas después de finalizado el tratamiento en aquellos pacientes que alcanzan respuesta viral sostenida, en tanto que aquellos pacientes que experimentan recidiva viral muestran un descenso mucho más moderado e inconstante. Esta observación les lleva a concluir que los niveles elevados de ferritina sérica en la HCC no tratada dependerían en la mayoría de los casos de la acción del propio virus o de la inflamación crónica que la infección induce. Esta conclusión viene avalada además por el hecho de que la evolución de los valores de ferritina sérica sigue un curso paralelo al de la GPT, que se considera como un marcador bioquímico de necroinflamación hepática. La sobrecarga de hierro sería, en todo caso, un evento secundario limitado a pacientes con circunstancias específicas (por ejemplo, portadores de mutaciones HFE o bebedores excesivos)^{57,234}.

Un reciente estudio publicado en 2012, afirma que en los pacientes con HCC, los niveles elevados de ferritina sérica se asociaron independientemente con la fibrosis

hepática avanzada, la esteatosis hepática, y la mala respuesta al tratamiento con interferón-alfa. Nos muestran que la ferritina sérica es un fuerte predictor de fracaso para alcanzar una respuesta viral sostenida tras el tratamiento de HCC con Peg-IFN y ribavirina de forma independiente de otros predictores de respuesta virológica, incluyendo el genotipo IL28B. Además, la ferritina en suero se asoció independientemente con enfermedad hepática avanzada, fibrosis y esteatosis, pero no con actividad necroinflamatoria. En principio, el aumento de los niveles de ferritina sérica en el contexto de la infección por VHC podría reflejar, al menos parcialmente, un aumento de la carga de hierro hepático, lo que podría ser explicada por la disregulación de la expresión de hepcidina²⁴². Sin embargo, el aumento de ferritina sérica es también frecuentemente consecuencia de las respuestas inflamatorias durante enfermedades infecciosas crónicas, enfermedades autoinmunes, o cáncer, un hallazgo que podría contribuir considerablemente al aumento de los niveles de ferritina sérica en pacientes con HCC.

Además, Desai TK et al.²⁴³ observaron que la reducción de los niveles de hierro por flebotomía tenía como resultado una significativa reducción de los niveles de ferritina sérica en pacientes con HCC, pudiendo mejorar la histología hepática y la respuesta al tratamiento en pacientes con HCC. Esto nos permite plantearnos si la flebotomía terapéutica podría beneficiar a estos pacientes.

En conclusión, diremos que una de las limitaciones de nuestro estudio, a la hora de valorar la sideremia y la ferritinemia como variables que influyen en la fibrosis, sería no haber medido el contenido hepático de hierro; si bien como hemos comentado anteriormente la mayoría de estudios coinciden en que tanto ferritina como hierro sérico son excelentes predictores del contenido hepático de hierro. Una de las ventajas de nuestro estudio, con otros publicados, es que estos valores no se encuentran afectados por factores de confusión tales como ingesta excesiva alcohol y la coinfección con otros virus tales como VHB y VIH. Además, se encuentran excluidos aquellos pacientes con HCC y mutaciones HFE asociadas con hemocromatosis hereditaria. Sin embargo, todavía existen resultados contradictorios respecto al papel de la sobrecarga férrica en la progresión de la fibrosis hepática.

COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS.

El valor medio de colesterol en los pacientes sin fibrosis fue significativamente superior al de los pacientes con fibrosis ($p < 0,0001$) en el análisis bivariable, sin embargo estos resultados no alcanzan significación estadística en el estudio multivariable. Con respecto a los triglicéridos no se han observado diferencias significativas entre los pacientes con y sin fibrosis, probablemente debido a que si bien disponemos de un

número aceptable de pacientes, existe un alto número de datos perdidos de algunas variables como los triglicéridos. Estos hallazgos coinciden con lo publicado en la literatura donde se ha comprobado que el hígado juega un papel fundamental en el metabolismo lipídico, de tal forma, que el nivel de colesterol total en suero disminuye en los pacientes con una enfermedad hepática crónica. La hepatitis crónica por virus C induce una mayor disminución de los niveles de colesterol total y lipoproteínas cuando se compara con otros tipos de enfermedad hepática, incluso en etapas tempranas de la infección por VHC, antes del desarrollo de cirrosis. Estudios recientes sugieren que el metabolismo lipídico puede ser relevante y juega un papel fundamental en el ciclo celular del VHC. En comparación con personas no infectadas, las personas con HCC tienden a tener reducido el colesterol total, el LDL y HDL colesterol. Los niveles de triglicéridos también han sido asociados a la infección por el VHC pero con datos aún contradictorios en cuanto a la elevación o descenso de sus niveles.

En 2008, un estudio asiático comprobó que la infección por el VHC está asociada con una elevación de los niveles de GPT, de HDL colesterol y de adiponectina sérica, pero con un menor nivel de colesterol total, triglicéridos, y de LDL colesterol. La asociación persistía incluso después de ajustarla por sexo, edad e índice de masa corporal. Además, la GPT parece ser que servía como un factor que afecta a la modificación de los perfiles metabólicos en pacientes con HCC. Sin embargo, el diseño de este estudio es transversal y de casos-controles por lo que no se ha podido evaluar una posible relación entre la progresión de la enfermedad crónica y estas alteraciones metabólicas²¹⁸. Este mismo grupo de trabajo en 2009 demostraban una relación proporcional significativa entre el nivel de triglicéridos y la carga viral en pacientes con genotipos 1 y 2; así como que la carga viral se asociaba con alteraciones en el metabolismo lipídico (colesterol total) solo en el genotipo 2⁸¹.

Es importante destacar que son pocos los estudios que incluyen el colesterol y los triglicéridos cuando se estudian las variables asociadas al desarrollo de fibrosis. Uno de ellos publicado en 2011, no encontraron asociación entre la presencia de fibrosis y los niveles de colesterol, tanto colesterol total, como HDL, LDL ni triglicéridos. En este estudio es la RI la que tiene un importante papel en la patogénesis de la esteatosis, que es a su vez, un factor determinante en la aparición de la fibrosis, junto con la edad avanzada y los niveles elevados de GOT. La principal limitación de este estudio es el escaso número de pacientes (N = 92), además solo incluye pacientes varones, al parecer para evitar el efecto hormonal como factor de confusión en la esteatosis, aunque de este modo se introduce un sesgo muy importante en la selección de los pacientes, que afectaría al resto de variables¹⁸⁵.

Hsu CS et al.²¹⁰, cuyos estudios hemos comentado anteriormente, también evaluó los factores asociados a fibrosis hepática, demostrando una estrecha relación entre la diabetes mellitus, la obesidad, un mayor grado de esteatosis hepática, el nivel de GPT, un nivel menor de colesterol sérico y de LDL colesterol, con la fibrosis hepática

avanzada. Todos ellos, excepto los niveles de LDL colesterol, se encontraban en consonancia con anteriores estudios. Por otra parte, también demostraban una asociación proporcional entre el nivel de LDL y la severidad de la fibrosis hepática. Además, el hallazgo más significativo de este estudio fue demostrar los efectos metabólicos diferentes en la severidad de la fibrosis hepática entre los distintos genotipos del VHC. La fibrosis hepática avanzada se asocia con una glucosa sérica en ayunas superior en la infección por genotipo 1, mientras que con un IMC más alto en la infección por genotipo 2.

Otros autores, como Siagris D et al.²⁴⁴, también demostraron unos niveles más bajos de colesterol total, LDL y HDL colesterol en pacientes con HCC, comparados con controles sanos, mientras que los niveles de triglicéridos fueron similares en ambos grupos. Estos hallazgos son similares a los obtenidos en nuestro estudio, donde no hemos encontrado diferencias significativas en los niveles de triglicéridos si bien en nuestro estudio hemos comparado pacientes con ausencia o presencia de fibrosis significativa y en el trabajo mencionado anteriormente comparan pacientes con HCC y sujetos sanos. Esto puede suponer una cierta limitación de nuestro estudio, donde la hipocolesterolemia puede ser atribuida a aquellos pacientes en fase de cirrosis y una pobre función hepática. Por otro lado, no encontraron correlación entre el estadio de fibrosis y el perfil lipídico.

En un gran estudio multicéntrico donde se evaluaron las variables asociadas con fibrosis significativa entre pacientes asiáticos y caucásicos, los factores independientemente asociados con fibrosis significativa en el análisis multivariante en los pacientes asiáticos incluidos fueron HOMA-IR, hipocolesterolemia (OR = 0,008, IC del 95%: 0,001-0,205), la actividad necroinflamatoria y la edad. Estas mismas variables se asociaron con fibrosis avanzada en los pacientes de regiones no asiáticas (hipocolesterolemia (OR = 0.03, IC del 95%: 0.002–0.45). La gran ventaja de este estudio es su potencia estadística si bien los resultados (en especial los relativos al colesterol) pueden haberse visto afectados por el hecho de incluir solamente pacientes con genotipos 2 y 3¹⁸⁶. Como comentamos anteriormente, Hsu CH et al.²¹⁰, postularon que los efectos metabólicos sobre la severidad de la fibrosis hepática pueden ser diferentes según genotipo.

Ramcharram D et al.²⁴⁵ analizaron los perfiles lipídicos en ayunas sobre 160 individuos infectados de raza negra y en otros 170 individuos de raza blanca, todos ellos infectados por genotipo 1. El análisis de regresión se utilizó para evaluar las asociaciones de cada lípido con la carga viral y la enfermedad hepática. Los niveles de triglicéridos fueron significativamente y directamente asociados con los niveles de carga viral ($p = 0,0034$) y la esteatosis ($p < 0,0001$). Los pacientes con fibrosis severa tendían a presentar menores niveles de HDL colesterol y de colesterol total en comparación con los que no tenían fibrosis severa (media 39,4 vs 45,5 mg / dl, $p = 0,002$;

media 172 vs 188 mg / dl, $p = 0,004$, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a los triglicéridos y la fibrosis. (Figura 125) Hallazgos también en consonancia con los nuestros. Además se trata de una población comparable con la nuestra, dado el predominio del genotipo 1 obtenido en nuestros resultados, aunque no han eliminado factores de confusión como ingesta de alcohol que puede afectar al metabolismo lipídico y no especifican si estas mediciones se obtuvieron antes o después de iniciar la terapia antiviral.

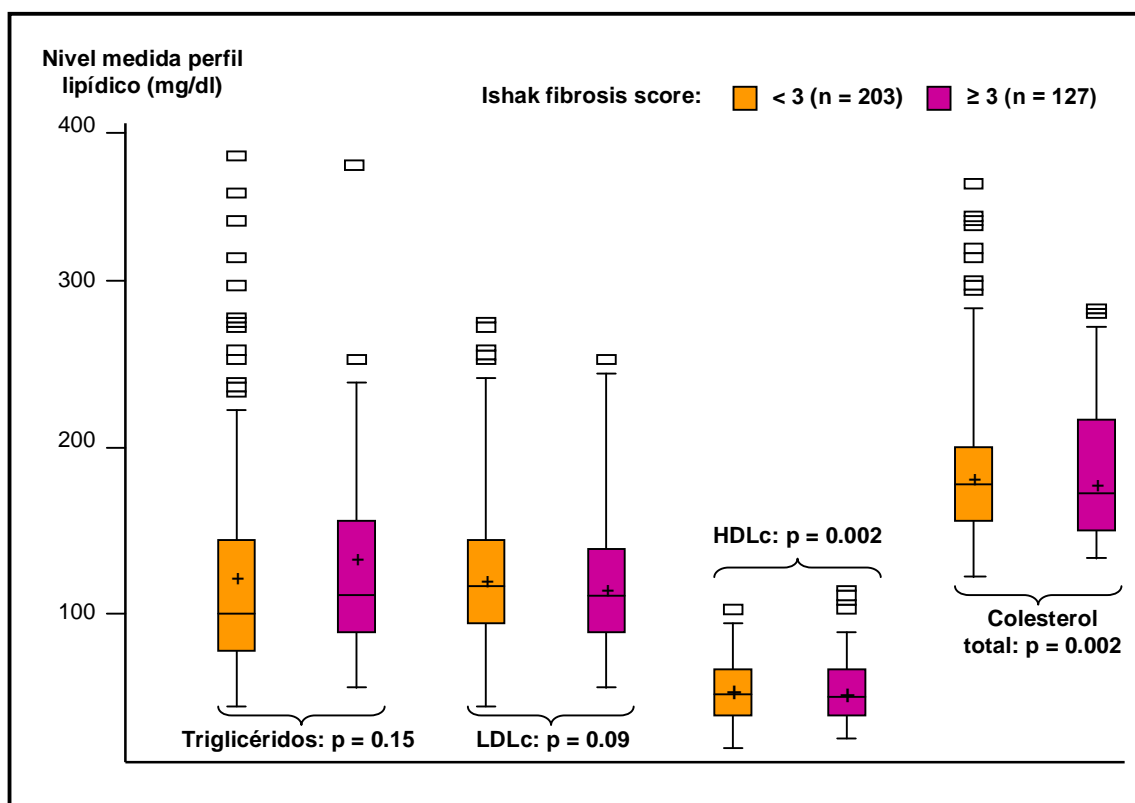


Figura 125. Perfil lipídico según puntuaciones de fibrosis de Ishak. Adaptado de Ramcharram D. et al²⁴⁵ y reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons".

En un estudio publicado en 2012, llevado a cabo en 183 pacientes infectados con genotipo 4, la infección crónica se asocia con intolerancia a la glucosa y, a pesar de eso, con un perfil lipídico favorable, consistente en una elevación del HDL colesterol y la reducción del colesterol total, LDL colesterol y triglicéridos, en comparación con controles sanos emparejados por edad y sexo. Además, los pacientes con fibrosis severa tenían mayor edad, IMC, valores de HOMA-IR mayores, niveles séricos de adiponectina, un mayor índice cintura / cadera, actividad inflamatoria más severa y menores niveles de HDL colesterol y colesterol total que aquellos con una fibrosis hepática leve ($p < 0,05$). En el análisis de regresión múltiple, el HOMA-IR, la

inflamación portal/perportal, el nivel de colesterol y la edad fueron predictores independientes de la severidad de la fibrosis. Otro hallazgo de este estudio fue la correlación entre la carga viral del VHC y los niveles de triglicéridos¹⁵². Hallazgos similares a los nuestros en lo relativo al colesterol total (en cuanto al análisis univariante), si bien ambas poblaciones no serían comparables en cuanto al genotipo, dada la baja prevalencia del genotipo 4 en nuestro medio.

La asociación de la infección crónica por VHC con la hipocolesterolemia, puede ser clínicamente relevante, ya que podría reducir el riesgo de enfermedades asociadas con hiperlipidemia principalmente arteroesclerosis y enfermedades cardíacas^{246,247}.

Como conclusión, podemos decir que en conjunto, la diabetes, la obesidad y la infección por el VHC pueden aumentar la probabilidad de interacciones entre los factores metabólicos y víricos. Estas interacciones generan sin duda situaciones clínicas más complejas, y por lo tanto merecen estudios más intensivos. Por ejemplo, las alteraciones metabólicas son importantes factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares, hepatitis, y diferentes tipos de cáncer. La relación entre los factores del VHC y metabólicos pone de relieve no sólo el riesgo sino también la necesidad de cribado de las enfermedades cardiovasculares y tumores malignos en pacientes con HCC. Por otra parte, una delimitación clara de la relación entre la infección por el VHC y los factores metabólicos podría mejorar nuestra comprensión sobre la fisiopatología y los mecanismos implicados en la infección por VHC y la progresión de la enfermedad.

TRANSAMINASAS.

Los niveles de GPT han sido significativamente más elevados en aquellos pacientes con presencia de fibrosis significativa ($p < 0,0001$) en el univariante, no confirmándose en el análisis multivariante, en nuestro estudio.

Los niveles de GPT elevados son indicativos de daño hepatocelular y su utilización como marcador de necrosis hepatocelular es bien conocida aunque su utilidad como marcador de fibrosis es debatible. Los pacientes con transaminasas séricas normales en repetidas ocasiones tienen una tasa de progresión de la fibrosis inferior comparado con aquellos pacientes con transaminasas elevadas. Sin embargo, hasta un 15-19% de los pacientes con niveles de transaminasas normales tienen tasas de progresión de la fibrosis moderada o alta. De este modo, en los pacientes mayores de 65 años, la HCC es más severa y presentan cifras de transaminasas más bajas que los pacientes jóvenes. La GPT ha sido utilizada como un indicador específico de la inflamación hepática, pero su correlación con la progresión de la enfermedad hepática sigue siendo algo

controvertido. Aunque en general, los pacientes con niveles de GPT persistentemente normales suelen tener una inflamación y fibrosis leve en la biopsia hepática, sin embargo la asociación con cirrosis e incluso hepatocarcinoma ha sido sugerida²⁴⁸.

Las principales limitaciones de muchos de estos estudios podría ser la propia definición de niveles normales de GPT, ya que no existe un acuerdo unánime acerca de cuál es el dintel máximo de normalidad de la cifra de GPT en la población general, por lo que el nivel de corte de GPT en los sujetos con una HCC tampoco se ha establecido con claridad. De hecho, existe una elevada heterogeneidad en los niveles de GPT de los pacientes con una HCC; esta gran variabilidad de la cifra de transaminasas depende del metabolismo hepático de las grasas, los hidratos de carbono, del sexo, de la raza, del peso, de la resistencia a la insulina, etc. Por otro lado, tampoco existe acuerdo sobre cuál debe ser el intervalo de observación y cuántas determinaciones se deben efectuar para considerar que un paciente padece una HCC con transaminasas persistentemente normales. Según la recomendación de la American Association for the Study of Liver Disease son necesarias tres o más determinaciones identificadas como normales durante un periodo de al menos 6 meses o más²⁴⁹. Así, como la definición de límite superior de la normalidad, donde recientes recomendaciones sugieren reducir éste a ≤ 30 UI/L²⁵⁰. Estas discrepancias entre los estudios se pueden explicar porque los niveles de GPT pueden variar a lo largo del curso de la enfermedad y los valores encontrados en el momento de la biopsia hepática o cualquier otro método de valoración de la fibrosis pueden no reflejar los valores previos.

En el mayor estudio realizado hasta la fecha, 691 pacientes con niveles de GPT normales fueron seguidos durante al menos 6 meses y 159 fueron biopsiados. Sólo el 17% tenían histología normal, de tal forma que más de un 80 % de los pacientes tenía cambios en la histología hepática, si bien estos eran leves y tan sólo el 1% tenía cirrosis. Sin embargo, los autores observaron que más del 21 % de los pacientes que mostraban niveles persistentemente normales GPT mostraban fluctuaciones posteriormente, por lo que incluso 12 meses seguimiento podían ser insuficientes²⁵¹.

Sin embargo, otros grupos presentan resultados menos optimistas, así en un estudio británico ninguno de los 91 pacientes con niveles normales de GPT tenían histología normal y hasta un 16% presentaban estadios avanzados de fibrosis²⁵². Más preocupante son los informes de progresión de la fibrosis en el 23% a 33% de los pacientes con GPT persistentemente normales a lo largo de 3-6 años de seguimiento. Uno de estos estudios que incluye la GPT en estudios de tasas de progresión de la fibrosis es el de Ghany MG et al.⁴⁹, ya que habitualmente sólo se incluyen la edad, sexo, alcohol y duración de la infección. En este caso, la tasa de progresión de la fibrosis era $< 0,05$ unidades de fibrosis por año en el grupo de pacientes con niveles de GPT ≤ 5 veces el límite superior de lo normal pero sin embargo, era de 0,96 unidades por año en el grupo de pacientes

con niveles > 5 veces lo normal, sugiriendo que la progresión de la fibrosis ocurre en aquellos pacientes con una importante elevación de niveles de GPT. Sin embargo, sólo se llevó a cabo una determinación y el límite superior de la normalidad considerado fue ≤ 42 UI/L. Por otro lado, la GOT también se asoció a fibrosis, pero sólo en el univariante.

En 2008, Sanai FM et al.⁸⁴ compararon 65 pacientes con niveles GPT normales con otro grupo de 66 pacientes con niveles persistentemente elevados durante 6 meses o más, la presencia de actividad necroinflamatoria ni la fibrosis avanzada y cirrosis diferían significativamente entre los dos grupos. Además, no encuentran diferencias en la histología hepática entre los pacientes con niveles normales al comparar aquellos en que están en el límite superior o inferior. El principal inconveniente de este estudio es que puede carecer de potencia estadística. Este mismo grupo en 2011 actualiza el concepto de límite superior de la normalidad en 19 UI/L para las mujeres y 30 UI/L para los hombres y para ello mediante incrementos séricos de estos valores ($\leq 0,5 \times \text{ULN}$, $\leq 1 \times \text{ULN}$, $1-2 \times \text{ULN}$ y $> 2 \times \text{ULN}$) elaboran cuatro grupos de estudio y su correlación histológica. Sin embargo, no encuentran diferencias significativas con los criterios tradicionales en cuanto a la predicción de la fibrosis²⁵³.

Dentro de los estudios que evalúan las variables que se asocian con presencia de fibrosis significativa, algunos como los de Hissar SS et al.⁴⁸ y Khattab MA et al.¹⁵², no han encontrado asociación entre los niveles de GPT con la fibrosis hepática avanzada. Sin embargo, en estos estudios se ha realizado una única determinación y se ha utilizado como variable cuantitativa exclusivamente. A diferencia de lo que ocurre en nuestro estudio que si hemos observado esta asociación en el análisis univariante, aunque no se ha confirmado en el estudio multivariante. En otras publicaciones, como la de Abraham R et al.¹⁵⁴, tampoco han observado esta asociación, aunque en este caso y a diferencia del nuestro si se ha categorizado la variable GPT ($\times 2$, $\times 3$, $\times 4$ y $\times 5$ ULN).

En un estudio publicado en 2010, la elevación de los niveles de GPT también se asociaba a fibrosis significativa en el análisis univariante pero no así en el estudio multivariante; si bien este estudio tenía una serie de limitaciones como que la fibrosis se había evaluado con biopsia hepática y estas se habían llevado a cabo con intención de valorar el inicio de tratamiento, por lo que eran pacientes con niveles elevados de GPT, GOT y ARN-VHC²⁰². Otros estudios, en los que si se ha asociado con fibrosis significativa son los de Hsu CS et al.²¹⁰, en este caso en pacientes con genotipos 1 y 2 y categorizada utilizando 80 UI/L como límite superior de la normalidad. En 2012, en un estudio recientemente publicado, los niveles de GPT elevados (> 41 UI/L) se asociaban con fibrosis significativa en el análisis univariante ($p < 0,0001$) pero no en el estudio multivariante.

De tal forma, se ha sugerido así la existencia de dos grupos de pacientes, aquellos con amplias fluctuaciones temporales que pueden presentar periodos amplios de varios meses de normalidad bioquímica y los verdaderos portadores VHC bioquímicamente silentes que no presentan ninguna fluctuación. Por esta razón, hasta el momento los estudios publicados al igual que el nuestro muestran estas limitaciones, ya que incluso se sugiere que el periodo de observación sea superior a 18 meses y las determinaciones analíticas se lleven a cabo cada 2-3 meses.

Por ello, aunque las guías de práctica clínica no recomiendan el screening del VHC en población general de individuos sanos asintomáticos, los datos publicados podrían argumentar lo contrario¹⁷². Tales pacientes podrían tener una hepatopatía crónica significativa y responder a la terapia antiviral. Además, la posibilidad de progresión a enfermedad hepática más severa, el riesgo del hepatocarcinoma y las consideraciones económicas, sugieren que los individuos infectados por VHC con normalidad bioquímica no deberían ser excluidos a priori de la terapia antiviral²⁵⁴.

Con respecto a los niveles de GOT, también se han encontrado diferencias significativas en el univariante (114,11±78,145 vs 44,17±20,619; p<0,0001), confirmándose además en el análisis multivariante como predictor independiente de fibrosis (OR = 1,162, IC del 95%:1,077-1,254). De acuerdo con nuestros resultados, el estudio realizado por Zechini B et al.²⁰³, con 112 pacientes, mostró una correlación positiva estadísticamente significativa entre los niveles basales de GOT con la actividad inflamatoria y la severidad de la fibrosis. Los niveles de GPT también estaban relacionados con el índice de fibrosis, aunque de forma inversa y en menor grado. **(Tabla 91).**

MODELO	BETA	ERROR ESTANDAR	R ²	P
1	0,53	0,849	0,281	0,000
2	1,316 -0,876	0,763	0,432	0,000

Tabla 91. Análisis multivariante reproducido del estudio de Zechini B et al²⁰³ y bajo licencia de "Wolters Kluwer Health". Modelo 1: niveles de GOT y Modelo 2: niveles de GOT y GPT.

Del mismo modo, Assy N et al.²⁵⁵ también encontraron una correlación positiva significativa entre los valores de GOT y el grado de fibrosis hepática (r = 0,64). Sin embargo, la principal limitación de este estudio es el escaso número de pacientes

incluidos (N = 79) en comparación con nuestra población. Además, 38 de estos pacientes eran consumidores moderados de alcohol, con lo que se pueden enmascarar los resultados. (Figura 126).

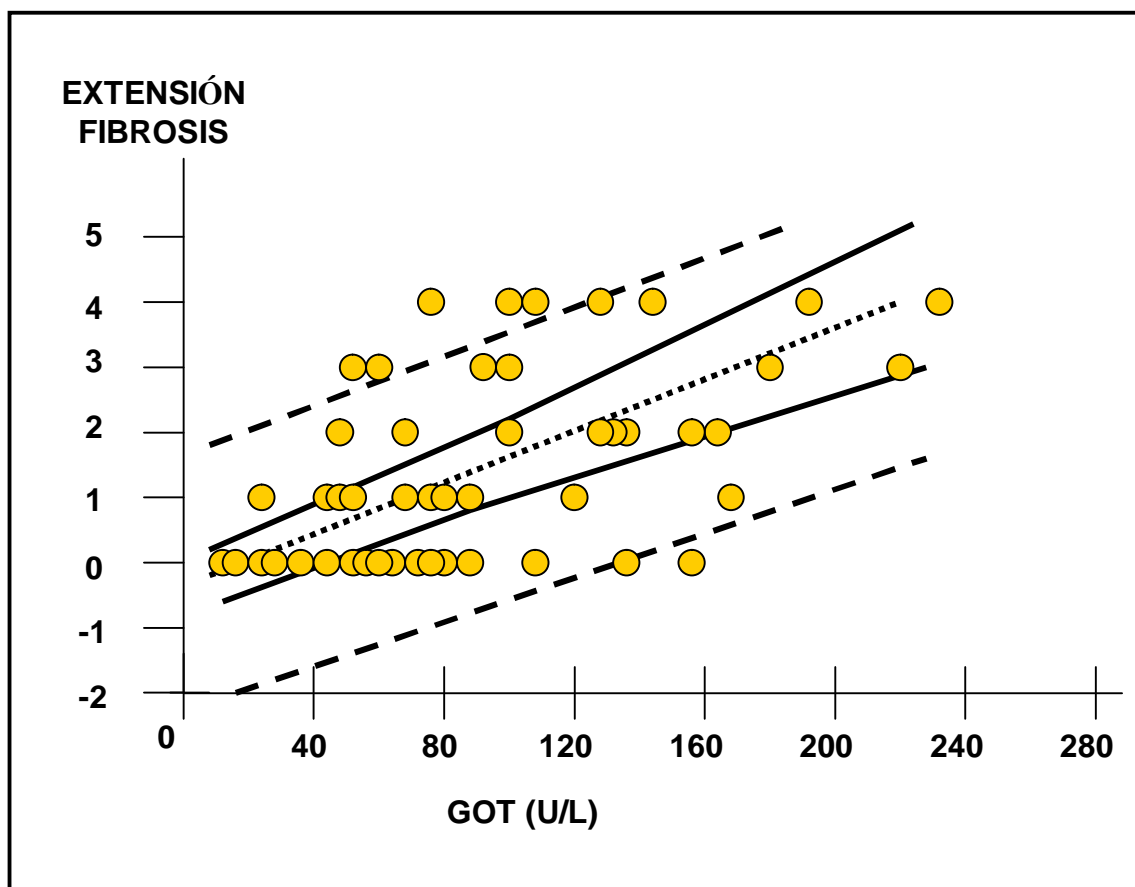


Figura 126. Correlación entre extensión de fibrosis y niveles de GOT en 79 pacientes con HCC ($r=0,64$, $p<0,0001$). Reproducido de Assy N et al²⁵⁵ y bajo licencia de “Nature Publishing Group”.

GOT fue también un predictor independiente de fibrosis significativa ($F \geq 2$) en pacientes con HCC de Arabia Saudí infectados con el genotipo 4 (el genotipo más prevalente de esta zona geográfica) en el estudio de Al Ashgar H et al.²⁵⁶. Recientemente publicado en 2012, en otro estudio saudí, la fibrosis también se encontraba significativamente asociada con los niveles de GOT (OR = 6,4, IC del 95%:1,7-24,1)¹⁸⁵. Conviene destacar que la principal ventaja de nuestro estudio con los anteriores es el mayor tamaño muestral, proporcionándole una mayor validez externa que los estudios anteriores.

Una explicación a nuestros hallazgos es que los niveles séricos de transaminasas se determinan tanto por la cantidad de aminotransferasas liberadas desde los hepatocitos y por el aclaramiento plasmático. La mayor parte del GOT en los hepatocitos está localizado en las mitocondrias, mientras que el GPT se encuentra exclusivamente en el citoplasma. Se ha sugerido que el nivel de GOT supera el de GPT cuando se libera de los compartimentos mitocondriales del hepatocito como consecuencia de un daño

hepatocelular severo. Además, el hecho de que el aclaramiento plasmático de la GOT es modulada por células sinusoidales hepáticas y que el desarrollo de fibrosis o cirrosis puede provocar un deterioro en la función sinusoidal, esto puede dar como resultado en un aumento adicional de GOT. Sin embargo, esto no serviría para explicar como GPT se asociaría con el desarrollo de cirrosis en nuestros resultados que más adelante comentaremos.

Como conclusión, en la práctica clínica, nuestros resultados apoyan el uso de la GOT como un marcador útil y no invasivo de progresión hepática de la fibrosis. La monitorización y seguimiento de los niveles de GOT, además de ser económico y fácil de realizar, podría diferenciar entre los grados leves, moderados y graves de esta enfermedad. Así pues, se puede concluir que el nivel de elevación de las transaminasas, concretamente la GOT, a diferencia de estudios previos basados en la GPT, es un indicativo indirecto de la progresión de la enfermedad, pero sin poder establecer una relación directa absoluta ni tampoco un punto de corte a partir del cual establecer la enfermedad.

GAMMAGLUTAMIL TRANSPEPTIDASA, FOSFATASA ALCALINA y BILIRRUBINA.

La GGT, es un marcador mucho más ambiguo ya que, refleja también colestasis así como daño hepático de una manera más global. Con frecuencia los niveles de GGT están elevados en los pacientes con HCC. Algunos autores han sugerido que estos cambios pueden estar relacionados con un fenómeno de colestasis por el daño de los conductos biliares, con la progresión de la enfermedad hepática, o incluso con una pobre respuesta a la terapia con IFN. Aunque el mecanismo para determinar un aumento en la actividad de la GGT en la fibrosis hepática aún no está claro, algunos autores han sugerido que la alteración de la GGT encontrada en la HCC y la cirrosis hepática debe estar relacionado con un aumento de la síntesis de GGT en el hígado como respuesta adaptativa a los cambios patológicos que tienen lugar en estas enfermedades. Como resultado, existe un desbordamiento de la enzima en el torrente sanguíneo.

Silva IS et al.²⁵⁷, observaron que un número significativo de pacientes con HCC tenían elevados los niveles de GGT. Además, la asociación encontrada entre los niveles de GGT elevada y estadios avanzados de actividad inflamatoria y fibrosis, les llevó a concluir que la GGT puede ser útil como un marcador histológico en infección crónica por el VHC, ya sea aislada o asociada a otros marcadores. Otros autores, también han considerado la GGT como un factor independiente predictor de fibrosis hepática^{118,258}. Recientemente se ha sugerido que puede estar relacionada con la esteatosis quien a su vez promueve el desarrollo de la fibrosis. De este modo, en un estudio publicado en

2007 los niveles elevados de GGT se relacionaban en el análisis univariante con un mayor índice de esteatosis, colestasis y actividad inflamatoria. A su vez, en el análisis multivariante la esteatosis y la actividad inflamatoria fueron las dos únicas variables independientes asociadas a la GGT. Estos hallazgos podrían explicar porque la elevación de GGT predice mala respuesta al tratamiento. La principal limitación de este estudio es el escaso número de pacientes incluidos²⁵⁹. En nuestro caso, los niveles de GGT fueron significativamente más elevados en el grupo de pacientes con fibrosis, aunque esto no se confirmó en el estudio multivariante.

Por otro lado, también se encontró una mayor elevación de los niveles de fosfatasa alcalina y bilirrubina en los pacientes con fibrosis, que tampoco se confirmó en el estudio multivariante. El incremento de los niveles de GGT con niveles de fosfatasa alcalina normales se observa con frecuencia en los pacientes con HCC, y con más frecuencia que en otras formas de hepatitis vírica. En nuestro caso, hemos encontrado elevación en ambos parámetros. Dado que el objetivo de esta tesis no ha sido valorar si estos parámetros se encontraban relacionados o no, desconocemos si su elevación podría ser atribuida a cierto componente de colestasis. Por otro lado, existen algunos estudios, como el publicado en Gut en 2010, donde biomarcadores séricos de fibrosis, en combinación con bilirrubina, albúmina y el INR, mejoraban la capacidad de predecir fibrosis, aunque la población objeto de este estudio no era comparable a la nuestra puesto que se trataba de pacientes no respondedores a tratamiento antiviral previo²⁶⁰. Además, Imbert-Bismuth F et al.¹¹⁸ elaboraron un modelo para predecir la fibrosis hepática en pacientes con HCC, ya mencionada anteriormente, combinando marcadores de laboratorio más sofisticados (alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1) junto con otros más habituales como GGT, gammaglobulina y bilirrubina.

PLAQUETAS.

La trombocitopenia es una complicación común de las enfermedades crónicas del hígado, pero su patogenia no está clara. Aunque generalmente se atribuye a hiperesplenismo, especialmente en los pacientes en fase de cirrosis, sin embargo otros factores también deberían ser considerados como la formación de anticuerpos antiplaquetarios y la disminución en la producción de trombopoyetina. Otros estudios afirman que la trombocitopenia en la infección por VHC se asociaba a la edad avanzada, el sexo masculino y a la coinfección por VHB y VIH. Además los pacientes con hepatitis C que se someten a tratamiento antiviral con interferón y ribavirina pueden experimentarla como un efecto secundario común. Actualmente la evidencia apunta a una etiología multifactorial como causa de la trombocitopenia en la HCC. Por otro lado, su prevalencia varía en los distintos estudios desde 0,2 a 45 %, especialmente a la hora

de definir el rango a partir del cual se consideraba trombocitopenia (desde < 180.000 a < 100.000 plaquetas)^{261,262}.

En nuestro estudio el recuento plaquetario era significativamente menor en los pacientes con fibrosis así como en aquellos con cirrosis ($p < 0,0001$). Una de las ventajas de nuestro estudio es que hemos considerado las plaquetas como una variable cuantitativa, lo que proporciona una mayor potencia estadística, aunque esta no se mostró como variable predictora de fibrosis en el análisis multivariante. Estos hallazgos guardarían relación con lo publicado en la literatura, como por ejemplo el estudio de Matsumura H et al.¹⁹², donde el recuento medio de plaquetas disminuía conforme aumentaba la severidad de la fibrosis, y los pacientes con hepatocarcinoma tenían el promedio más bajo de recuento de plaquetas de los cinco grupos de pacientes. En este estudio, el recuento medio de plaquetas de los pacientes en estadio F1 fue significativamente más alta que los de los pacientes en estadios F2, F3, F4 y el grupo de hepatocarcinoma, y a su vez también el de los pacientes en F2 era significativamente más alta que los de los pacientes de los grupos F3, F4 y carcinoma hepatocelular. Además, el recuento de plaquetas y la edad fueron las variables independientes asociadas al desarrollo de hepatocarcinoma en el análisis multivariante.

En 2007, Karasu Z et al.²⁶³ investigó la relación entre el recuento de plaquetas periférica y el grado de fibrosis en pacientes con hepatitis viral crónica. En un esfuerzo por evitar los efectos del hiperesplenismo, se excluyeron los pacientes con esplenomegalia y/o bi o pancitopenia. Setecientos ochenta y cuatro pacientes (265 hepatopatía crónica por VHC y 519 por VHB) se incluyeron en el estudio. El análisis univariante mostró que el recuento de plaquetas periféricas guardaba una correlación negativa con el índice de fibrosis, la actividad necroinflamatoria, y la edad en ambos grupos. En el análisis multivariante, el recuento de plaquetas tenía una correlación similar con el grado de fibrosis y la edad, pero no con la actividad necroinflamatoria, en ambos grupos. El recuento de plaquetas periféricas disminuyó más significativamente en las mujeres con HCC, pero no en el grupo de hepatitis B crónica. En conclusión, una disminución en el recuento de plaquetas periférica puede ser una señal de un aumento en el grado de fibrosis durante el curso de la hepatitis viral crónica B y C, y otros factores además del hiperesplenismo pueden jugar un papel en esta disminución en el recuento de plaquetas periférica.

También existen estudios que afirman que la fibrosis hepática avanzada parece ser un factor independiente que contribuye a la trombocitopenia en la hepatitis viral crónica, como el de Adinolfi LE et al.²⁶⁴, donde la prevalencia y el grado de trombocitopenia estaban significativamente asociados con mayores grados de fibrosis y estos hallazgos eran independientes de características demográficas o bioquímicas, actividad necroinflamatoria, hipertensión portal y esplenomegalia. De tal modo, en los sujetos con trombocitopenia, el recuento de plaquetas descendía progresivamente conforme se

incrementaba el grado de fibrosis. Más recientemente, otro estudio retrospectivo con 89 pacientes con infección crónica por virus C, incluyendo 50 pacientes con hepatitis crónica, 18 casos de cirrosis hepática, y 21 cirróticos con carcinoma hepatocelular asociado, también objetivaron como el recuento de plaquetas disminuía con el avance de la fibrosis hepática²⁶⁵.

Sin embargo, en casos de VHC, el propio virus u otros mecanismos también pueden conducir a bajos niveles de plaquetas. Con el fin de evaluar el impacto de la cirrosis en trombocitopenia dentro de población infectada con VHC, estas dos variables fueron evaluadas en una revisión sistemática de 2011 pero sin encontrar una correlación entre ambas. La falta de correlación entre la cirrosis y la trombocitopenia puede reflejar que la cirrosis no es el único predictor de trombocitopenia en los pacientes con VHC²⁶¹.

Por otro lado, también existen estudios como el de Ghany MG et al.⁴⁹, donde no se observaron diferencias significativas en cuanto al recuento plaquetario entre los pacientes en los que progresaba la fibrosis y los que no. Tampoco se observaron diferencias significativas en entre los pacientes con fibrosis leve (F1 y F2) y severa (F3 y F4) en el estudio de Khattab MA et al.¹⁵² con pacientes infectados exclusivamente con genotipo 4 ($p = 0,1$) en el univariante.

DESARROLLO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

La etapa final de la fibrosis lo constituye la cirrosis con una fibrosis extensa que provoca una desestructuración de la arquitectura y modificación del sistema microvascular que comportará un aumento de la presión portal. De los 377 pacientes incluidos en nuestro estudio 63 (16,7 %) presentaban cirrosis hepática frente a 314 (83,3%) que no. El aspecto más importante de la historia natural es establecer cuántos enfermos con hepatitis crónica desarrollaran cirrosis hepática, la forma sintomática de la enfermedad hepática crónica que conlleva una pérdida de calidad de vida y un coste sanitario importante independientemente de la mortalidad (**figura 127**).

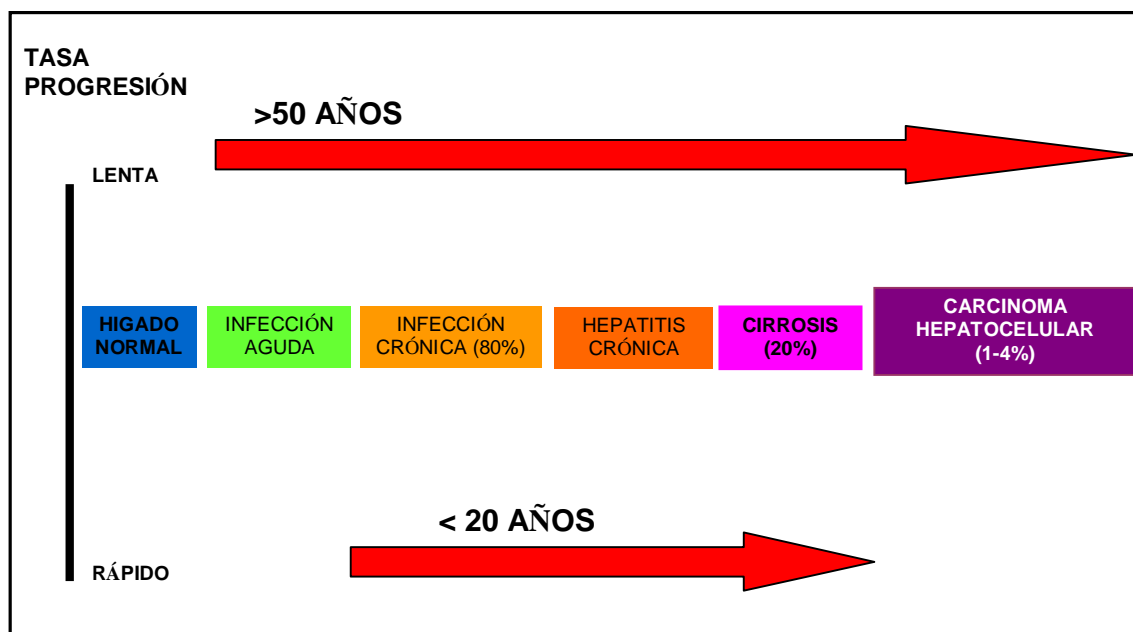


Figura 127. Historia natural de la hepatitis C. Adaptada de Lauer et al¹ y reproducido con permiso de la "Massachussets Medical Society", editor de la revista "New England Journal of Medicine".

De los estudios publicados, se observa que la proporción de enfermos con hepatitis crónica que desarrollan cirrosis hepática es extraordinariamente variable según se consideren estudios obtenidos a través de unidades de hepatología, postransfusionales, donantes de sangre o casos adquiridos en la comunidad, si bien los diferentes grupos varían en función del tiempo en que se desarrolló la infección, consumo de alcohol y porcentaje de enfermos con transaminasas elevadas, que son factores, que determinan una mayor progresión de la enfermedad²⁶⁶. (Tabla 92). Estas importantes variaciones están condicionadas también por el carácter prospectivo o retrospectivo de los estudios y por no poder cumplir todos los parámetros de un estudio ideal que debería ser prospectivo, completo y con tiempo de estudio muy prolongado, al menos superior a 20 años, y partir de una fuente de infección perfectamente identificada en el tiempo. De cualquier forma, globalmente se admite que la proporción de sujetos que desarrollan cirrosis entre los infectados de forma crónica por virus C ha quedado establecida en un 15% a los 20 años^{1,267}. Si bien nuestro estudio tiene un diseño transversal la proporción de pacientes con cirrosis está en consonancia con los datos publicados en la literatura. Bellentani S et al.²⁶⁸, en una publicación derivada del estudio Dionisos con 162 pacientes con HCC, presentó un 12 % de casos con cirrosis (78 pacientes). Además, el análisis multivariante mostraba que independientemente de la edad, sexo e ingesta excesiva de alcohol, la infección por genotipo 1 era el mayor factor de riesgo asociado para el desarrollo de cirrosis y hepatocarcinoma. Sin embargo, Benvegnú L et al.⁸³ en un estudio con 429 pacientes con HCC, de los cuales 109 eran pacientes cirróticos, no encontraron diferencias significativas en cuanto al genotipo. En otro gran estudio

francés llevado a cabo entre 1991 y 1993, en 5789 pacientes sometidos a estudio histológico, la cirrosis estuvo presente en 1237 casos (21,4 %). En este estudio, la cirrosis se relacionaba de forma independiente con el modo de transmisión de la infección, con el incremento de la edad, la ingesta excesiva de alcohol y la positividad del AgHbs, siendo la prevalencia similar en ambos sexos²⁶⁹.

ESTUDIO	% CASOS CON CIRROSIS A 20 AÑOS INFECCIÓN	CATEGORIAS ESTANDARIZADAS			
		Media edad infección 25 años	10%>30-50 gr alcohol/día	60% elevación de GPT	50% hombres
Unidades hepatología	21,5% (17,5-25,6)	23,7%	24,3%	15,8%	19,1%
Postransfusional	24,6% (11,1-39,8)	11,8%			21,7%
Donantes sangre	3,8% (1,1-6,6)	7,4%	2,6%	3,7%	3,2%
Comunitarios	6,4% (3,5-9,4)	5,8%	6,5%	5,2%	7,8%

Tabla 92. Frecuencias absolutas de cirrosis en relación con el tipo de estudio realizado. Modificado de Freeman AJ et al.²⁶⁶ y reproducido bajo licencia de "John Wiley and Sons".

Por esta razón, la mayoría de estudios publicados hacen referencia a las variables que influyen en la evolución de la fibrosis antes de que se establezca la cirrosis. Nosotros hemos evaluado si alguna de estas variables predicen la aparición de cirrosis propiamente dicha, teniendo en cuenta que algunas de estas variables como bilirrubina, albúmina y el recuento de plaquetas se han identificado consistentemente como factores independientes asociados con descompensación hepática o el desarrollo de hepatocarcinoma. Estas variables son marcadores reconocidos de gravedad de la enfermedad, lo que refleja trastornos hepáticos en función de síntesis (albúmina) y excretora (bilirrubina) o la severidad de la hipertensión portal (recuento de plaquetas).

En nuestro estudio, no encontramos diferencias significativas en cuanto al sexo, genotipo, ni carga viral categorizada entre los pacientes con y sin cirrosis hepática en el análisis univariante; a excepción de la fibrosis que sí presentaba diferencias significativas ($p < 0,0001$), aunque no se mostró como variable predictora independiente en el análisis multivariante. En cuanto a las variables cuantitativas, la edad, la glucosa, colesterol, bilirrubina, GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, albúmina, carga viral, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, plaquetas, tiempo y actividad de protrombina mostraron diferencias significativas en el univariante ($p < 0,05$) pero solo la GPT, el tiempo y la actividad de protrombina se presentaron como variables predictoras independientes de cirrosis.

De acuerdo con nuestros resultados la GPT o ALT se confirma como una variable independiente predictora de cirrosis, de tal modo que a medida que aumenta la cirrosis aumentarían los niveles de GPT o ALT. Como hemos comentado anteriormente de una manera más amplia, los niveles de GPT elevados son indicativos de daño hepatocelular y su utilización como marcador de necrosis hepatocelular es bien conocida aunque su utilidad como marcador de fibrosis es debatible. Por ello, la asociación entre el nivel de GPT y los hallazgos histológicos no está claramente establecida.

En 2001 un estudio coreano valoró si había alguna correlación entre el grado de histología hepática y los niveles de GPT y cuyos resultados sugirieron que los niveles de GPT no predicen la presencia de daño hepático, no encontrando una correlación positiva entre los niveles de GPT y degeneración intralobular o fibrosis ($p = 0,082$) aunque si se correlacionaría aunque débilmente con determinados cambio arquitecturales como inflamación portal o necrosis periportal. El principal inconveniente de este estudio es su escasa potencia estadística al incluir tan solo a 56 pacientes, además no especifica la proporción de pacientes en cada estadio de fibrosis o cirrosis⁸⁵.

En 2002, seis centros europeos evaluaron en 864 pacientes infectados por VHC con carga viral positiva el valor predictivo de los niveles de GPT en cuanto a los hallazgos histológicos y observaron que el 99 % de los pacientes con niveles elevados de GPT tenían al menos un grado de fibrosis F1 en la biopsia hepática. Del total de pacientes con niveles elevados de GPT, 64 (8%) tenían cirrosis hepática. Sin embargo, una proporción importante de pacientes con niveles persistentemente normales de GPT también pueden mostrar algunos signos histológicos de fibrosis, aunque el grado de fibrosis suele ser leve; y a veces pueden observarse estadios avanzados de fibrosis, y en raros casos la cirrosis puede estar presente²⁷⁰. Es importante señalar que en nuestro estudio hemos considerado la variable GPT como cuantitativa lo que confiere una mayor potencia estadística, a diferencia de los estudios anteriores que categorizan la variable en función de los valores de referencia del centro hospitalario.

Por el contrario, también existen autores como Sanai FM et al.⁸⁴, que ya mencionamos en un apartado anterior, que no encuentran diferencias significativas en cuanto a histología hepática en dos grupos de pacientes con niveles normales y elevados de GPT, de tal forma que 4 pacientes tenían cirrosis en el grupo de GPT normal frente a 5 pacientes del grupo con GPT elevada (6,2% vs 7,6%; $p = NS$); si bien, este estudio carecería de potencia estadística en cuanto al número de sujetos incluidos en el estudio en comparación con nuestros resultados. Además, Zechini B et al.²⁰³, mostró en el análisis multivariante que los valores basales de GOT, así como los valores de GPT aunque en menor grado, eran predictores significativos del grado de fibrosis. En

particular, los niveles basales de GPT estaban inversamente relacionados con la puntuación de la fibrosis, mientras que los valores de GOT estaban directamente relacionados.

Por otro lado, aunque no ha sido objeto de estudio de nuestra tesis, es bien conocido que el aumento del índice GOT/GPT se correlaciona con la progresión de la fibrosis, de forma que casi el 75% de los pacientes con un cociente superior a 1 presentan cirrosis hepática. No obstante, otros autores no han podido confirmar estos hallazgos y ponen en duda la utilidad de este cociente. De hecho, Reedy DW et al.²⁷¹ no encontraron diferencias significativas entre los valores medios de GOT y GPT entre cirróticos y no cirróticos. Imperiale TF et al.¹⁵⁸ sugieren que un índice GOT/GPT ≥ 1 no resulta tan útil para la predicción de la cirrosis en la HCC como se pensaba anteriormente, y hace hincapié en la necesidad de la validación a la hora de tomar decisiones clínicas en cohortes de pacientes independientes. Park GJ et al.¹⁵⁷ consideran que un cociente GOT/GPT ≥ 1 es muy específico, pero no es diagnóstico para la presencia de cirrosis en pacientes con infección crónica por el VHC.

La mayoría de estudios que defienden la utilidad del cociente GOT/GPT en la predicción de la cirrosis, sin embargo, no proporcionan una explicación lógica al incremento de este cociente. La explicación que aportarían algunos autores es que la GPT se localiza en el citoplasma celular mientras que la GOT es citosólica y mitocondrial. La vida media de la GPT es 47 horas aproximadamente en la circulación, de unas 17 horas para la GOT total con una media de 87 horas para la GOT mitocondrial. El aclaramiento de la GOT sería desarrollado en primer lugar por células sinusoidales. Se ha sugerido que el nivel de GOT supera el de GPT cuando se libera de los compartimentos mitocondriales del hepatocito como consecuencia de un daño hepatocelular severo. Además, el hecho de que el aclaramiento plasmático de la GOT es modulada por células sinusoidales hepáticas y que el desarrollo de fibrosis o cirrosis puede provocar un deterioro en la función sinusoidal, esto puede dar como resultado en un aumento adicional de GOT²⁵⁵. Sin embargo, consideramos que esta explicación sería suficiente para explicar la asociación encontrada entre GOT y el desarrollo de fibrosis pero no lo sería para la asociación entre la GPT y la cirrosis de nuestros resultados.

Como conclusión, en nuestro estudio los niveles de AST o GOT se mostraban como una variable independiente asociada al desarrollo de fibrosis mientras que eran los niveles de ALT o GPT los que se asociaban de forma independiente con el desarrollo de cirrosis en el análisis multivariante. En la práctica clínica, nuestros resultados apoyan el uso de la GOT como un marcador útil y no invasivo de progresión hepática de la fibrosis. La monitorización y seguimiento de los niveles

de GOT, además de ser económico y fácil de realizar, podría diferenciar entre los grados leves, moderados y graves de esta enfermedad. Así pues, se puede concluir que el nivel de elevación de las transaminasas, concretamente la GOT, es un indicativo indirecto de la progresión de la enfermedad, mientras que a diferencia de estudios previos sería el aumento de los niveles de GPT un marcador de cirrosis establecida.

La enfermedad hepática crónica, especialmente en la etapa final, se caracteriza por hemorragia clínica y disminución de los niveles de la mayoría de los factores procoagulantes, con la notable excepción del factor VIII y del factor de von Willebrand, los cuales están elevados. Sin embargo, la disminución de los niveles de procoagulantes va acompañada por la disminución de los niveles de anticoagulantes naturales como la antitrombina y la proteína C. La coagulopatía en el estadio avanzado de la enfermedad hepática esta en relación a dos mecanismos: déficit de síntesis y consumo. El hígado produce no solo factores de coagulación sino también inhibidores de la misma, proteínas fibrinolíticas y sus inhibidores. Hay disminución de todos los factores de coagulación de síntesis hepática, primeramente el factor VII, después el V, IX, X y el II (protrombina). El factor I (fibrinógeno) suele estar disminuido en la fase avanzada de la enfermedad por disminución del metabolismo de sustancias activadoras del plasminogeno y/o disminución de la síntesis de inhibidores de la fibrinólisis. Todo ello se traduce en la prolongación del tiempo de protrombina (mide el tiempo de coagulación desde la activación del factor VII, mediante la formación del coágulo de fibrina) y tromboplastina²⁷².

En nuestro estudio, tanto el tiempo como la actividad de protrombina se han mostrado como predictores independientes de cirrosis, lo cual se explica por lo que hemos comentado anteriormente. Sin embargo, estas dos variables se comportarían de modo diferente. De tal modo, que a medida que se prolonga el tiempo de protrombina aumenta la probabilidad de cirrosis y conforme disminuye la actividad de protrombina, también aumentaría la cirrosis.

Aunque apenas existen estudios que evalúen el tiempo y la actividad de protrombina como variables predictoras de cirrosis, estas suelen estar incluidas en test diseñados para la predicción de la fibrosis y cirrosis como el HALT-C¹¹⁴ o el Fibrometer®¹¹⁹.

Es importante señalar, un estudio publicado en 2003 que comparaba un índice con cinco marcadores bioquímicos con tiempo de protrombina, recuento de plaquetas y el índice edad/plaquetas donde en el análisis multivariante solamente este índice y el tiempo de protrombina ($p = 0,02$) se mostraron como variables predictoras independientes de fibrosis²⁷³. Estos resultados estarían en consonancia con los nuestros, donde como hemos comentado, tanto el tiempo de protrombina ($p = 0,044$) como la actividad de protrombina ($p = 0,001$) se mostraron como variables predictoras de cirrosis,

correlacionándose negativamente con el estadio de fibrosis. Si bien, ambas variables están relacionadas entre sí, en nuestro análisis multivariante parecen influir de modo diferente cada una de ellas en el desarrollo de fibrosis.

Siddiqi AI et al.²⁷⁴ elaboró un estudio en el que el tiempo de protrombina y el cociente GOT/GPT > 1 juntos tiene un elevado VPP para la detección de cirrosis hepática tanto B como C. Se observó que el cociente GOT/GPT > 1 tenía una sensibilidad del 70 % y una especificidad de 88% como indicador de cirrosis hepática, con un valor predictivo positivo de 94,5%. Por otro lado, el tiempo de protrombina y el cociente GOT/GPT juntos tenían una especificidad del 98% y 53,9% de sensibilidad con un VPP de 98,2%.

Como conclusión, tanto el tiempo como la actividad de protrombina se han mostrado en nuestro estudio como variables independientes asociadas al desarrollo de cirrosis. Sin embargo, estas dos variables se comportarían de modo diferente. De tal modo, que a medida que se prolonga el tiempo de protrombina aumenta la probabilidad de cirrosis y conforme disminuye la actividad de protrombina, también aumentaría la cirrosis.

DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA.

Del total de pacientes incluidos, 11 presentaban hepatocarcinoma asociado, lo que representa un 2,9 %. Todos ellos eran pacientes con cirrosis hepática establecida. Varios estudios han mostrado que el riesgo de hepatocarcinoma en personas con infección por VHC es más alto en aquellos pacientes con cirrosis que en aquellos con HCC sin cirrosis; si bien existen artículos que demuestran que el hepatocarcinoma también puede aparecer aunque menos frecuentemente en pacientes sin fibrosis. La incidencia de carcinoma en pacientes con cirrosis establecida es de un 2-8% anual, siendo en el paciente con hepatitis crónica menor del 1%, asociado en la mayoría de los casos a hepatitis crónica B. Sin embargo, existen diferencias geográficas, así en estudios asiáticos, la incidencia anual de hepatocarcinoma en pacientes cirróticos por VHC es 4-10 %, mientras que en estudios europeos, la incidencia anual es 0,5-5%, datos comparables con los obtenidos en nuestra población²⁷⁵.

El estado actual del CHC en España no es bien conocido. Los datos que aportan los registros de mortalidad y los registros globales de cáncer son fragmentados y escasos. Por esto, se propuso elaborar un registro multicéntrico nacional de CHC de novo para conocer el estado actual de la enfermedad, que ha sido publicado en 2010 y que incluía 705 casos de 62 centros españoles; de los cuales el 42,3 % estaban infectados por VHC y el 88,9% de los casos asentaban en cirrosis bien establecida²⁷⁶. Sin embargo, este

estudio no incluyó nuestro centro por lo que nuestros resultados son los primeros datos aportados acerca de la situación epidemiológica del hepatocarcinoma en nuestra área sanitaria.

El papel carcinogénico del VHC en ausencia de cirrosis es controvertido, ya que la aparición de CHC en estos pacientes es excepcional. Parece que el mecanismo de crecimiento tumoral y lesión histológica puede ser diferente en pacientes sin cirrosis, y diversos estudios sugieren que además de las infecciones virales, en el paciente no cirrótico podrían existir otros factores de riesgo genéticos y/o ambientales que cobran mayor importancia en el desarrollo tumoral.

En el análisis univariante de las variables asociadas al desarrollo del hepatocarcinoma se encontraron diferencias significativas con la fibrosis, la cirrosis y el genotipo; no así con el sexo ni la carga viral. También se observaron diferencias significativas con la edad, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, plaquetas, tiempo y actividad de protrombina. Sin embargo, el análisis multivariante no mostró ninguna de estas variables como predictoras de hepatocarcinoma, probablemente por el reducido número de pacientes incluidos.

Como hemos comentado anteriormente, la incidencia de hepatocarcinoma está claramente aumentada y determinada por la lesión hepática subyacente. De tal forma, que en más del 80% de los casos el CHC se desarrolla sobre un hígado de morfología cirrótica. Así, en un estudio japonés con 490 pacientes no tratados con HCC la incidencia por 100 personas/año aumentó con el estadio de fibrosis en el momento del diagnóstico, de 0,4 en los pacientes con estadio F0 o F1 a 1,5, 5,1 y 6,9 entre aquellos con etapas fibrosis F2, F3, F4 respectivamente²⁷⁷. Además, en un gran estudio multicéntrico de Roudot-Thoraval F et al.²⁶⁹, los 240 casos descritos de hepatocarcinoma (3,6 %) fueron todos observados en pacientes con cirrosis claramente establecida clínica e histológicamente (17,8%). En nuestro estudio, la fibrosis y la cirrosis se asociaron significativamente al desarrollo de hepatocarcinoma en el univariante, no obteniendo resultados en el estudio multivariante.

De igual modo, la edad avanzada y el sexo masculino se han encontrado en estudios longitudinales asociados con un aumento del riesgo de carcinoma hepatocelular entre las personas con cirrosis de diferente etiología. La edad avanzada puede reflejar una mayor duración de la cirrosis. El mayor riesgo de carcinoma hepatocelular entre los pacientes varones con cirrosis podría explicarse por una mayor prevalencia de otros factores de riesgo, tales como el abuso del alcohol, o por un efecto cancerígeno de los andrógenos²⁷⁵. (Tabla 93). En nuestro caso, si bien los resultados no fueron significativos si se observa una mayor prevalencia de varones (66%) que de mujeres (34 %). Por otro lado, la edad media de los pacientes con hepatocarcinoma fue

significativamente superior al del grupo de pacientes que no lo asociaban ($p < 0,001$), aunque esta no se mostró como variable predictora independiente en el estudio multivariante probablemente por la falta de potencia estadística.

VARIABLES	ASOCIACIÓN
Del huesped	
Edad en momento diagnóstico	Importante
Edad en momento infección	Importante
Sexo masculino	Importante
Severidad enfermedad hepática	Importante
Comorbilidad asociada	
Porfiria cutanea tarda	Importante (EEUU y Sureste Europa)
Sobrecarga férrica	Controversia
Esteatosis hepática	Evidencia creciente
Diabetes mellitus	Evidencia creciente
Del virus	
Genotipo	Controversia
Carga viral	Insuficiente evidencia
Coinfección VHB	Importante
Coinfección oculta VHB	Evidencia creciente
Coinfección VIH	Evidencia creciente
Externos	
Ingesta alcohol	Importante
Tabaco	Controversia

Tabla 93. Factores que afectan a la progresión del hepatocarcinoma en pacientes con cirrosis hepática por VHC. Adaptado de Fattovich G et al.²⁷⁵ y reproducido bajo licencia de "Elsevier".

Los pacientes de la European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP) podían ser estratificados en 4 categorías según el riesgo de CHC a los 5 años en el análisis multivariante. De este modo, el riesgo era relativamente bajo (3%) para un hombre de 50 años de edad con cirrosis que presentaba unos niveles séricos de bilirrubina y recuento de plaquetas dentro de la normalidad y era ligeramente superior (7%) para un hombre de 60 años de edad con las mismas características de base. Sin embargo, aumentaba al 15% para un hombre de 50 años de edad y un 25% para un hombre de 60 años que asociaban cirrosis, elevación de la bilirrubina sérica (de 1,0 a 3,0 mg / dl), un recuento bajo de plaquetas (de 100.000 a 130.000 / mm³), y la presencia de arañas

vasculares y / o eritema palmar^{275,278}. Estos hallazgos sugieren que las diferencias en la incidencia de hepatocarcinoma entre pacientes con cirrosis pueden ser debidas a diferencias en las características clínicas de los pacientes. Estos hallazgos podrían estar en relación con las diferencias significativas encontradas en nuestro análisis univariante con la bilirrubina y el recuento plaquetario.

Otro estudio posterior con 416 pacientes cirróticos por VHC, también observó que la edad avanzada, el recuento plaquetario y los niveles de bilirrubina eran también factores predictores de hepatocarcinoma junto con el sexo masculino, la presencia de varices esofágicas y el descenso de albúmina²⁷⁹.

Por otro lado, en nuestro caso encontramos diferencias significativas entre el genotipo y el hepatocarcinoma ($p < 0,05$) en el univariante pero no se confirmó en el análisis multivariante como variable predictora independiente, quizá sería necesario un mayor número de pacientes para poder extraer conclusiones. De este modo, en la mayoría de estudios longitudinales no se ha encontrado ninguna asociación entre el genotipo del VHC y riesgo de desarrollar CHC en pacientes con cirrosis^{83,280}.

También existen autores como Bruno et al.²⁸¹ que observaron como el genotipo 1b era el principal factor de riesgo de hepatocarcinoma junto como la edad y sexo masculino, si bien se trata de un estudio europeo donde el genotipo más prevalente era este mismo (101 de 163 pacientes, 62 % total). Este mismo autor, en 2007 volvió a examinar esta cohorte de pacientes observando que los pacientes infectados con genotipo 1 y varices esofágicas tienen un mayor riesgo de desarrollo de tumor, por lo que recomienda una estrecha vigilancia en este tipo de enfermos²⁸².

Otros autores que proponen al genotipo 1b como posible factor de riesgo de hepatocarcinoma son Kobayashi M et al.²⁰⁵ y Tanaka K et al.²⁸³, si bien podría haber un efecto cohorte ya que los individuos de mayor edad se infectaron cuando el genotipo 1 era el más prevalente.

En un artículo comentado anteriormente de Matsumura H et al.¹⁹², solamente la edad (OR = 1,231, $p = 0,003$) y el recuento de plaquetas (OR = 0,749, $p = 0,002$) eran factores de riesgo de hepatocarcinoma, con una progresión similar entre los diferentes genotipos 1b, 2a y 2b. Estos hallazgos podrían estar en consonancia con los nuestros, si bien en nuestro caso no se obtuvieron resultados en el análisis multivariante por el escaso número de pacientes.

Por otro lado, Lok AS et al.²⁸⁴ publicaron un ensayo clínico que incluyó 1005 enfermos con HCC avanzada no respondedores al tratamiento con Peg-INF y ribavirina: 59% con

fibrosis en puente y 41% con cirrosis. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir Peg-INF durante 3,5 años o no tratamiento. La incidencia acumulada de desarrollo de hepatocarcinoma fue del 1,9% a los 3 años y del 5,9% a los 5 años, sin observarse diferencias significativas entre ambos brazos (5,4% vs. 5,0% a los 5 años). La incidencia de hepatocarcinoma fue mayor en pacientes cirróticos que en aquellos que mostraban puentes de fibrosis (7,0% vs. 4,1%, respectivamente; $p = 0,08$). Si bien este estudio no es comparable al nuestro puesto que se trata de un ensayo clínico y además son pacientes sometidos previamente a tratamiento, es interesante mencionarlo en cuanto a que igualmente la edad avanzada, la raza negra, la plaquetopenia, unos niveles altos de fosfatasa alcalina, la presencia de varices esofágicas y el hábito tabáquico se asociaron de forma independiente con el desarrollo de hepatocarcinoma.

Finalmente, en 2012 se ha publicado un estudio prospectivo en India con 68 pacientes con hepatocarcinoma y VHC, 55 con HCC y otros 68 pacientes con cirrosis y VHC. En este estudio, observaron que el genotipo 1 y el genotipo 4 eran factores de riesgo para el desarrollo de hepatocarcinoma, cuando se compararon los casos con tumor asociado con los casos de HCC. Además, el genotipo 3 y el genotipo 4 eran factores de riesgo para el desarrollo de CHC, cuando se comparaba este grupo con el de cirrosis. De este modo, el genotipo 1 era un factor de riesgo menor para el desarrollo de hepatocarcinoma en los casos crónicos de hepatitis C mientras que el genotipo 3 jugaba un papel de menor importancia en el desarrollo del tumor en casos de cirrosis. Sin embargo, era el genotipo 4, el que se encontró que aumentaba el triple el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma en casos de hepatitis crónica y cirrosis²⁸⁵. Por tanto, será necesario determinar si la respuesta a la terapia antiviral en pacientes indios infectados por el genotipo 4 es similar a la tasa de éxito observada para el genotipo 3, o si es similar a la tasa de respuesta pobre observadas para la infección por genotipo 1.

Por último, hasta el momento no existen evidencias de que la concentración viral tenga algún impacto en el riesgo de desarrollar CHC. En este último estudio, la carga viral del VHC se encontró que era alta (más de 6 log₁₀copias / ml) en 16 de los 68 (23,5%) casos de hepatocarcinoma. La carga viral también fue elevada en 19 de 55 (34,6%) de HCC y 17 casos de los 68 (25,0%) casos de cirrosis. La carga viral baja (<6 log₁₀copias/ml) fue documentada en el 76,5% (52 de 68) de los casos de carcinoma en comparación con el 65,5% (36 de 55) de casos con HCC y el 75,0% (51 de 68) de los casos con cirrosis. Por lo que, la carga viral elevada no se encontró que fuera un factor de riesgo para el desarrollo de hepatocarcinoma²⁸⁵. Este último hallazgo, podría estar en relación con nuestros resultados donde la carga viral tampoco se asoció con el desarrollo del tumor en el análisis univariante.

Para finalizar, podemos decir que no hemos podido extraer conclusiones acerca de las variables asociadas al desarrollo de hepatocarcinoma, debido probablemente al pequeño número de pacientes incluidos.

LIMITACIONES.

- La primera limitación de este trabajo ha sido el **tipo de estudio**, ya que se trata de un estudio observacional descriptivo transversal y, por lo tanto, presenta los puntos débiles de este tipo de estudio. Uno de estos puntos es que no se puede establecer de forma tan clara una relación causa-efecto como en un ensayo clínico aleatorizado pero sí pueden encontrarse relaciones de algunas variables. Además, tiene a su favor que da información real, veraz y representativa de la labor asistencial diaria.
- Si bien no calculamos que “n” deberíamos incluir en este sentido para que los resultados que obtuviéramos tuvieran significación estadística, consideramos que es un registro estadísticamente fiable debido al número elevado de pacientes con HCC que incluye y que le otorga **validez externa**. La validez externa de un estudio epidemiológico o de un registro se basa en la posibilidad de extrapolar los datos a la población general y que garantiza la representatividad de la muestra. No ocurre lo mismo con los pacientes con hepatocarcinoma, donde la falta de potencia estadística no nos ha permitido extraer conclusiones.
- Al no ser un estudio poblacional, no recoge los pacientes que no acuden al hospital, por ejemplo, pacientes con HCC en seguimiento por su médico de cabecera o aquellos asintomáticos que no han sido diagnosticados. Además, un sesgo de inclusión que puede limitar el espectro de este estudio es que se han excluido pacientes en edad pediátrica y pacientes consumidores crónicos de alcohol o en tratamiento previo con interferones o análogos. Sin embargo, esto último nos va a permitir extraer conclusiones más fiables acerca de las variables que influyen en la evolución de la fibrosis.
- La valoración de la fibrosis hepática ha sido realizada mediante **métodos** exclusivamente serológicos, debido que cuando se empezó a plantear esta tesis el uso del Fibroscan® era muy limitado en España y no se encontraba disponible en nuestro hospital, aunque como hemos comentado anteriormente, hoy día no

existe un algoritmo claramente establecido y estos métodos no invasivos siguen estando en vigor.

- La valoración de los datos se ha realizado en un punto determinado del **tiempo**, sin tener en cuenta la duración de la infección y sin tener en cuenta las tasas de progresión de la fibrosis, ya que esta progresa de una manera no lineal.
- Otra limitación importante es la alta frecuencia de “**pérdidas**” encontradas en las diversas variables estudiadas. Lo cual es un problema inherente a todos los registros clínicos hospitalarios, pero que modifican los resultados en las distintas técnicas estadísticas utilizadas. Sin embargo la gran muestra utilizada da la suficiente robustez al estudio, haciendo que dichas diferencias sean intrascendentes.
- Finalmente, existe un **sesgo oculto** que asumimos, de todas aquellas variables que desconocemos y que pueden estar influyendo en la evolución de la fibrosis.

PUNTOS FUERTES.

- Si bien no se trata de un estudio epidemiológico en sentido estricto, si es la primera aproximación epidemiológica realizada en la provincia de Jaén hasta la fecha sobre la HCC basándonos en un registro hospitalario. Además, no existen demasiados trabajos en España que analicen en profundidad a una población tan importante.
- Se trata de una población bastante homogénea ya que se han excluido pacientes afectados por otras hepatopatías distintas al VHC, así como los consumidores crónicos de alcohol. Además, se han incluido pacientes “naive” que no han sido tratados previamente lo que nos ha permitido evaluar las variables asociadas al desarrollo de la fibrosis eliminando ciertas variables de confusión que podrían interferir en los resultados.
- Dentro de los estudios que evalúan los factores predictivos de la fibrosis se trata de uno de los trabajos que incluyen un mayor número de pacientes así como uno de los que ha evaluado un mayor número de variables en un solo estudio.
- Otro de los puntos fuertes ha sido el análisis estadístico multivariante utilizado, que le proporciona fiabilidad al estudio.

- Aunque las asociaciones encontradas entre la fibrosis y la glucosa, colesterol, triglicéridos, hierro y ferritina han sido débiles (ya que no han alcanzado significación estadística en el multivariante) sin embargo, nos ha permitido generar nuevas hipótesis de trabajo.
- Con respecto a la hiperglucemia, en primer lugar se nos plantea si es probable que la elevada prevalencia de infección por el VHC haya contribuido al aumento de la diabetes observado en las últimas décadas. En segundo lugar, si los pacientes con VHC deben considerarse como un grupo especial de riesgo para el desarrollo de diabetes y si se debería recomendar la sobrecarga oral de glucosa como prueba de cribado. También, se nos plantea cual es la mejor actitud terapéutica con respecto a la RI para evitar las complicaciones asociadas en los pacientes con VHC. Finalmente, si es posible que la flebotomía terapéutica podría jugar algún papel en los pacientes con HCC.
- La hiperuricemia observada en los pacientes con fibrosis, si bien no se han encontrado diferencias significativas en el multivariante, nos plantea si puede jugar algún papel en la progresión de la fibrosis o forma parte de un estado inflamatorio crónico.
- El riesgo de enfermedad coronaria en pacientes infectados por VHC es complejo. La infección por el VHC está asociada, como hemos comentado anteriormente, con el tabaquismo, el abuso de sustancias como el alcohol, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico. Por otra parte, se ha demostrado la existencia de un perfil lipídico favorable que se asocia con la infección por el VHC, con un aumento de los lípidos a la normalidad o incluso a niveles patológicos tras el éxito del tratamiento antiviral. Es difícil evaluar si existe una asociación entre el VHC y la aterosclerosis, ya sea causal, debido a la respuesta inflamatoria después de la infección crónica por el VHC, o por una mayor incidencia de factores de riesgo convencionales para la isquémica miocárdica. Por tanto, es importante llevar a cabo estudios que nos permitan conocer el riesgo cardiovascular real de estos pacientes.
- Por otro lado, si bien el genotipo por si mismo no influye en la progresión de la fibrosis, quizás sea el efecto metabólico diferente que tienen sobre la severidad de la fibrosis hepática los diferentes genotipos, lo que realmente influya.

- En conclusión, este estudio permite plantearnos si la infección crónica por el VHC puede ser considerada no solamente como una enfermedad viral sino también como un tipo especial de enfermedad metabólica.

APLICABILIDAD DEL TRABAJO.

Los pacientes infectados por el VHC que evolucionan hacia la cronicidad suelen ser un grupo muy heterogéneo, porque engloba a pacientes con niveles normales de transaminasas y sin evidencia de daño hepático; pacientes con transaminasas persistentemente elevadas, pero sin signos de progresión de la enfermedad hepática; y pacientes que progresaran a cirrosis, entre los cuales unos tendrán enfermedad compensada y otros evolucionarán hacia el fallo hepático o hepatocarcinoma. Sin duda alguna, lo que más preocupa al clínico y, por supuesto al paciente, es conocer si la enfermedad sigue una progresión lineal y si es inevitable el paso a estadios cada vez más avanzados y graves. Así, en las fases iniciales de la enfermedad, la fibrosis es leve o inexistente en más del 80% de los casos, mientras que en fases más avanzadas los pacientes presentan un mayor grado de fibrosis o una cirrosis establecida. Debido a que, a partir de la infección, estos procesos no se producen con la misma intensidad y rapidez en los distintos pacientes, la gravedad de las lesiones anatomopatológicas difiere mucho de un paciente a otro en el momento del diagnóstico. Además, la evaluación de la progresión de las lesiones hepáticas resulta fundamental en el control de los pacientes con HCC, independientemente de si han realizado tratamiento antivírico y del resultado de éste, ya que no se conoce con seguridad la evolución a largo plazo de las lesiones existentes en pacientes en los que se consiguió la erradicación del VHC.

Establecer el pronóstico individual de enfermo con HCC es extraordinariamente difícil ya que, aun existiendo información histológica, la evolución de un caso concreto está condicionada por muchas variables que son capaces de modificar la progresión de la enfermedad. De cualquier forma, cuanto más información se posee más ajustada es la predicción, sin olvidar que el tratamiento (si bien no ha sido objeto estudio en nuestro trabajo) y la modificación de los factores de progresión son capaces de mejorar considerablemente el pronóstico de la enfermedad.

A la hora de evaluar este riesgo individual de desarrollo de la fibrosis hay que tener en cuenta factores ambientales (alcohol, tóxicos), intrínsecos (obesidad, genética), y, por tratarse de una enfermedad infecciosa, resulta importante valorar si las características del VHC influyen o no, algo apenas estudiado hasta el momento.

Resulta sugerente pensar que las características virales determinan la evolución de la fibrosis hepática ya que sería más fácil influir sobre ellas para evitar futuras complicaciones. De nuestros hallazgos, aunque no hemos obtenido resultados

estadísticamente significativos, si se obtienen ciertas tendencias como la menor carga viral en pacientes con fibrosis avanzada.

Por otro lado, para obtener información sobre la influencia de los genotipos del virus C habría que seguir ampliando la muestra, a pesar de que nuestro tamaño muestral es muy importante, ya que la gran mayoría de pacientes se encuentran infectados por virus con genotipo 1, lo que nos obligaría a realizar un estudio multicéntrico que nos permitiera garantizar una muestra suficiente para obtener resultados estadísticamente significativos.

En los últimos años han surgido nuevas terapias con inhibidores de proteasas, que permiten unas altas tasas de curación pero con grandes inconvenientes, como el incremento importante de efectos secundarios y su altísimo coste (algo nada desdeñable en nuestro futuro a corto plazo). Por ello, resulta de capital importancia estudios como el nuestro, ya que la base de todo el tratamiento estriba en conocer que pacientes precisan ser tratados para evitar la progresión de su enfermedad y en cuales no sería necesario este tipo de costes personales y socioeconómicos porque su posibilidad de progresión es muy baja. De hecho, hoy día se han establecido unas condiciones para ser tratados las cuales se basan principalmente en el grado de fibrosis hepática de cada paciente. De todo ello, se derivarían nuevas líneas de investigación que podrían replantearnos las indicaciones de tratamiento que existen actualmente.

Este estudio es el primero hasta la fecha realizado en la provincia de Jaén y está basado en un registro hospitalario, por lo que se trata de una aproximación epidemiológica a la situación de la HCC y en concreto de la fibrosis hepática en nuestra región. Por otro lado, dentro de los estudios que evalúan las variables asociadas a fibrosis el número total de pacientes incluidos es muy elevado, así como las variables estudiadas, en comparación con otros registros españoles.

El propósito de esta tesis es transmitir una mayor concienciación y una mejor disposición para atender a los pacientes afectados por el VHC. El estudio nos muestra la oportunidad de conocer la situación actual de la fibrosis hepática por VHC que ocurre en nuestra provincia, y los factores asociados a su desarrollo. Es, por tanto, un buen reflejo de la realidad clínica que ocurre con los pacientes infectados que acuden a nuestras consultas. Todo ello nos ofrece un amplio campo de reflexión sobre los cambios en nuestras actitudes y actuaciones para detectar los pacientes infectados que presentan un mayor riesgo de desarrollo de fibrosis, y en definitiva de cirrosis, para poder actuar de una manera adecuada.

En la práctica clínica, nuestros resultados apoyan el uso de la GOT o AST como un marcador indirecto, útil y no invasivo de progresión de la fibrosis hepática aunque sin

poder establecer por el momento una relación directa absoluta. Por otro lado, el aumento de los niveles de GPT o ALT se asociaría con el desarrollo de cirrosis.

La monitorización y seguimiento de los niveles de transaminasas, además de ser económico y fácil de realizar, podría diferenciar entre los grados leves, moderados y graves de esta enfermedad. Del mismo modo, que la actividad y el tiempo de protrombina se han mostrado asociadas a la cirrosis. Es importante destacar que las variables empleadas se utilizan de manera rutinaria en la práctica clínica y lo que resulta más importante en estos tiempos es que son económicas.

Por otro lado, de esta tesis pueden surgir nuevas hipótesis tal que la infección por VHC puede ser considerada no solamente como una enfermedad viral sino también como un tipo especial de enfermedad metabólica. La HCC se asociaría a un estado de hiperuricemia, interactuaría con el metabolismo lipídico conduciendo a esteatosis, perjudicaría el metabolismo de la glucosa dando lugar a resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 y además, está asociado con un incremento del riesgo de aterosclerosis carotídea. Estas interacciones generarían situaciones clínicas más complejas por lo que un mayor conocimiento de la relación entre la infección por VHC y los factores metabólicos podría mejorar nuestra comprensión sobre la fisiopatología y los mecanismos implicados en la infección y progresión de la enfermedad.

Finalmente, este trabajo nos ha proporcionado una amplia base de datos que está siendo utilizada para llevar a cabo un registro completo de estos pacientes, al mismo tiempo que está siendo empleada para el desarrollo de futuros estudios.

En definitiva, este trabajo nos podría servir como herramienta de calidad, al conocer la realidad de nuestra situación actual en cuanto a la fibrosis hepática y las variables que pueden influir en su desarrollo.

RESUMEN DEL ESTUDIO.

La infección por el VHC representa un problema sanitario de gran magnitud y a pesar de los avances en el conocimiento de la biología, el diagnóstico y el tratamiento todavía existe un gran desconocimiento de ciertos aspectos como su prevalencia o la historia natural de la enfermedad.

Este estudio si bien, no es un estudio epidemiológico en sentido estricto, trata de aproximarnos a la situación de actual de la HCC en nuestra región. Del mismo modo,

hemos tratado de identificar cuáles son los factores o variables asociados a un mayor desarrollo de fibrosis hepática en estos enfermos, así como de cirrosis o hepatocarcinoma. Dentro de estos factores, hemos observado que la edad es uno de los factores determinantes de la evolución de la fibrosis. Por otro lado, la utilización de análisis habituales como marcadores indirectos del grado o estadio de fibrosis hepática es muy atractiva. Estos marcadores no tienen relación directa con la fisiopatología de la producción o degradación de colágena en el hígado, sino que miden o reflejan las consecuencias del depósito de fibra en el órgano. Nuestros resultados apoyan el uso en nuestra práctica clínica habitual de algunas de estas variables como las transaminasas o el tiempo y actividad de protrombina, las cuales son pruebas de laboratorio económicas y fáciles de obtener.

No obstante, nuestros resultados han sido obtenidos de un estudio observacional por lo que debemos “mirarlos” con prudencia aunque son lo suficientemente importantes para plantearnos futuros estudios adecuados y de suficiente duración para conocer la historia natural de la enfermedad.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES GLOBALES.

- La frecuencia de pacientes con HCC ha sido de 377 individuos de un área hospitalaria que comprende unos 333.078 habitantes, en el periodo comprendido entre Enero 2008 y Junio 2010.
- Los pacientes con HCC se han caracterizado por tener una edad media de unos 50 años, siendo en su mayoría varones. El genotipo 1 ha sido el más frecuente y la carga viral suele ser elevada en la mayoría de casos.
- La mayor parte de pacientes se caracterizaban por la ausencia de fibrosis significativa, en menor porcentaje los pacientes presentaban una cirrosis establecida y con mucha menos frecuencia asociaban hepatocarcinoma.

CONCLUSIONES ESPECÍFICAS.

- La edad avanzada y la GOT/AST se comportan como variables independientes asociadas a fibrosis en los pacientes con HCC, no afectando ni la carga ni el genotipo en la probabilidad de progresión de la fibrosis en los pacientes infectados por el VHC.
- La GPT/ALT así como la actividad y el tiempo de protrombina se comportan como variables independientes asociadas al desarrollo de cirrosis en los pacientes con HCC.
- No hemos podido extraer conclusiones acerca de las variables asociadas al hepatocarcinoma.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFIA



1. Lauer GM, Walter BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001; 345 (1): 41-52.
2. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Aniñan OV, Mc Quillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med.* 1999; 341(8): 556-62.
3. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144(10):705-14.
4. Barrera J.M. Características epidemiológicas de la infección por el virus de la hepatitis C. En: Guarner C, editor. *Hepatitis C.* 1ª edición. Barcelona: ICG Marge; 2008.p.53-75.
5. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol.* 2008;48(1):148-62.
6. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C en España. *Med Clin (Barc).* 2006; 127 (3): 113-7.
7. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 2001; 55 (3):133-59.
8. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology.* 2002; 36(5 Suppl 1):S21-9.
9. Maroto MC, García F. Variabilidad genética del virus de la hepatitis C. Departamento y Servicio de Microbiología. Facultad de Medicina y Hospital Universitario San Cecilio. Granada.
10. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C genotypes. *Clin Microbiol Rev.* 2000; 13 (2):223-35.
11. Majid AM, Gretch DR. Current and future hepatitis C virus diagnostic testing: problems and advancements. *Microbes and Infection.* 2002; 4 (12):1227-36.
12. Ferreira González A, Shiffmann ML. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis.* 2004; 24 Supl 2:9-18.
13. Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology.* 2002; 36 Supl 1: S65-S73.
14. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C; HEPATITIS Group. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat.* 2001; 8(2):87-95.
15. Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology.* 2002; 122(6):1554-68.
16. Veillon P, Payan C, Picchio G, Maniez-Montreuil M, Guntz P, Lunel F. Comparative evaluation of the total hepatitis C virus core antigen, branched-DNA, and amplicor monitor assays in determining viremia for patients with chronic hepatitis C during interferon plus ribavirin combination therapy. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(7):3212-20.

17. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005; 42(4):962-73.
18. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang*. 1999;76(3):149-58.
19. Esteban J, Sauleda S. Diagnóstico de laboratorio de la infección por el virus de la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol*. 2006; 29 (Supl 2):107-12.
20. Anderson JC, Simonetti J, Fisher DG, Williams J, Yamamura Y, Rodriguez N, et al. Comparison of different HCV viral load and genotyping assays. *J Clin Virol*. 2003; 28 (1):27-37.
21. Esteban JI, González A, Hernández JM, Viladomiu L, Sánchez C, López-Talavera JC, et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med*. 1990;323(16):1107-12.
22. Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat*. 2002;9(2):84-100.
23. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology*. 1997;26(3 Suppl 1):62S-65S.
24. Vandelli C, Renzo F, Romanò L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99 (5):855-9.
25. Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S106-13.
26. Zanetti AR, Tanzi E, Paccagnini S, Principi N, Pizzocolo G, Caccamo ML, et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. Lombardy Study Group on Vertical HCV Transmission. *Lancet*. 1995;345(8945):289-91.
27. Arenas MD, Sánchez Payá J, González C, Rivera F, Antolín A. Audit on the degree of application of universal precautions in a haemodialysis unit. *Nephrol Dial Transplant*. 1999; 14 (4):1001-3.
28. Forns X, Martínez-Bauer E, Feliu A, García-Retortillo M, Martín M, Gay E, et al. Nosocomial transmission of HCV in the liver unit of a tertiary care center. *Hepatology*. 2005;41(1):115-22.
29. Barril G, González Parra E, Alcázar R, Arenas D, Campistol JM, Carmelo C et al. Spanish Society of Nephrology. Guidelines on haemodialysis-associated viral infections. *Nefrologia*. 2004; 24 Supl 2:43-46.
30. Ciancio A, Manzini P, Castagno F, D'Antico S, Reynaudo P, Coucourde L, et al. Digestive endoscopy is not a major risk factor for transmitting hepatitis C virus. *Ann Intern Med*. 2005; 142 (11):903-9.

31. Bruguera M. Hepatitis C esporádica: importancia relativa de la transmisión vertical, sexual y parenteral inaparente del virus de la hepatitis C. *Med Clin (Barc)*. 1998; 111(17): 658-9.
32. Enriquez J, Gallego A. Historia natural y situaciones clínicas de la hepatitis C. En: Andrade R.J, Moreno R, Planas R, directores. *Hepatitis crónica C. Presente y futuro*. Barcelona: Grupo Mayo; 2007.p.1-7.
33. Hui CK, Belaye T, Montegrande K, Wright TL. A comparison in the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C between persistently normal and elevated transaminase. *J Hepatol*. 2003; 38(4):511-7.
34. D'Amico G, García-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006; 44: 217-231.
35. Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol*. 2005; 42 (Suppl. 1): S100-S107.
36. Prieto M, Aguilera V, Berenguer M, Pina R, Benlloch S. Selección de candidatos para trasplante hepático. *Gastroenterol Hepatol*. 2007; 30 (1): 42-53.
37. Vargas V, Ortiz M. Modelos pronósticos en la cirrosis hepática. El modelo Meld. *Gastroenterol Hepatol*. 2003; 26(4):257-9
38. Cholongitas E, Marelli L, Shusang V, Senzolo M, Rolles K, Patch D, et al. A systematic review of the performance of the model for end-stage liver disease (MELD) in the setting of liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006; 12(7):1049-1061.
39. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005; 42(5): 1208–36.
40. Barbara L, Benzi G, Gaiani S, Fusconi F, Zironi G, Siringo S, et al. Natural history of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology*. 1992; 16 (1):132–7.
41. Bolondi L. Screening for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Hepatol*. 2003;39(6):1076–84.
42. Sherman M. Alpha-fetoprotein: An obituary. *J Hepatol*. 2001;34(4):603–5.
43. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008; 134(6): 1655-69.
44. Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999; 14(7):618-33.
45. Solís-Herruzo JA, Solís Muñoz P, Muñoz Yagüe T. Tratamiento de la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2011; 34 (Espec Congr 1):37-50
46. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997; 349 (9055):825-32.
47. Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C: identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology*. 2006; 43 (2 Suppl 1):S194-206.

48. Hissar SS, Kumar M, Tyagi P, Goyal A, Suneetha PV, Agarwal S, et al. Natural history of hepatic fibrosis progression in chronic hepatitis C virus infection in India. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009; 24 (4):581-7.
49. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Promrat K, et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2003;124(1):97-104.
50. Minola E, Prati D, Suter F, Maggiolo F, Caprioli F, Sonzogni A, et al. Age at infection affects the long-term outcome of transfusion-associated chronic hepatitis C. *Blood*. 2002; 99 (12):4588-91.
51. Bissell DM. Sex and hepatic fibrosis. *Hepatology*. 1999 Mar;29(3):988-9.
52. Pyrsopoulos N, Jeffers L. Chronic hepatitis C in African Americans. *Clin Liver Dis*. 2005; 9(3):427-38.
53. Pyrsopoulos N, Jeffers L. Hepatitis C in African Americans. *J Clin Gastroenterol*. 2007;41(2):185-93.
54. Safdar K, Schiff ER. Alcohol and hepatitis C. *Semin Liver Dis*. 2004; 24(3):305-15.
55. Mueller S, Millionig G, Seitz HK. Alcoholic liver disease and hepatitis C: a frequently underestimated combination. *World J Gastroenterol*. 2009; 15 (28):3462-71.
56. Metwally MA, Zein CO, Zein NN. Clinical significance of hepatic iron deposition and serum iron values in patients with chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(2): 286-91.
57. Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology*. 1992;102(6):2108-13.
58. Shedlofsky SI. Role of iron in the natural history and clinical course of hepatitis C disease. *Hepatology*. 1998; 45 (20): 349-55.
59. Guyader D, Thirouard AS, Erdtmann L, Rakba N, Jacquelinet S, Danielou H, et al. Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2007; 46 (4): 587-95.
60. Thorburn D, Curry G, Spooner R, Spence E, Oien K, Halls D, et al. The role of iron and haemochromatosis gene mutations in the progression of liver disease in chronic hepatitis C. *Gut*. 2002; 50(2):248-52.
61. Benhamou Y et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology*. 1999; 30(4):1054-8.
62. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Natural history of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals and the impact of HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: a meta-analysis. *AIDS*. 2008;22(15):1979-91.
63. Prieto M, Berenguer M, Rayón M, Córdoba J, Argüello L, Carrasco D, et al. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology*. 1999; 29 (1):250-6.

64. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim R, Rayon M, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol.* 2000; 32(4): 673-84.
65. Berenguer M. What determines the natural history of recurrent hepatitis C after liver transplantation? *J Hepatol.* 2005;42(4):448-56.
66. Benlloch S, Beltran B, Moreno R, Berenguer M. Fibrogénesis y trasplante hepático. *Gastroenterol Hepatol.* 2003; 26(6):381-95.
67. Antón MD, Roselló E, Gómez F, Paredes JM, López A, Moreno-Osset E. Esteatosis hepática en la hepatitis crónica por virus C: estudio de los factores de riesgo y relación con el estadio de fibrosis. *Med Clin.* 2009;132(15): 574-579.
68. Westin J, Nordlinder H, Lagging M, Norkrans G, Wejstal R. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol.* 2002; 37(6):837-42.
69. Gabriel A, Ziolkowski A, Radlowski P, Tomaszek K, Dziambor A. Hepatocyte steatosis in HCV patients promotes fibrosis by enhancing TGF-beta liver expression. *Hepatol Res.* 2008; 38(2):141-6.
70. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G, et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology.* 2006; 130(6):1636-42.
71. Romero-Gómez M. Hepatitis C y resistencia a la insulina: esteatosis, fibrosis y no respuesta. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2006; 98(8): 605-615.
72. Aparcero Lopez R, Romero Gómez M. La resistencia a la insulina en la hepatitis crónica C. *GH continuada.* 2010; 9(2):73-6.
73. Narita R, Abe S, Kihara Y, Akiyama T, Tabaru A, Otsuki M. Insulin resistance and insulin secretion in chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2004; 41(1):132-8.
74. Mitsuyoshi H, Itoh Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Nakashima T, et al. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 2008; 38(4):348-53.
75. Yoneda M, Saito S, Ikeda T, Fujita K, Mawatari H, Kirikoshi H, et al. Hepatitis C virus directly associates with insulin resistance independent of the visceral fat area in non obese and non diabetic patients. *J Viral Hepat.* 2007; 14(9): 600-7.
76. Suzuki T, Aizaki H, Murakami K, Shoji I, Wakita T. Molecular biology of hepatitis C virus. *J Gastroenterol.* 2007;42(6):411-23.
77. Lecube A, Hernández C, Genescà J, Simó R. Proinflammatory cytokines, insulin resistance, and insulin secretion in chronic hepatitis C patients: a case-control study. *Diabetes Care.* 2006; 29(5): 1096-101.
78. Chen W, Wong T, Tomlinson G, Krahn M, Heathcote EJ. Prevalence and predictors of obesity among individuals with positive hepatitis C antibody in a tertiary referral clinic. *J Hepatol.* 2008; 49(5):711-7.
79. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, et al.

- Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2008; 134(2): 416-23.
- 80.** Escolar JL, Gavilán JC, Rivera A, Clavijo E. Hepatitis C: carga viral y lípidos plasmáticos. *Gastroenterol Hepatol*. 2000; 23(3):149.
- 81.** Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, Wang CC, Chen CL, Lai MY, et al. Association of lipid profiles with hepatitis C viral load in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(3):598-604.
- 82.** Alberti A, Pontisso P, Chemello L, Fattovich G, Benvegnu L, Belussi F, et al. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease. *J Hepatol*. 1995; 22(1 Supl.): 38-41.
- 83.** Benvegnú L, Fattovich G, Noventa F, Tremolada F, Chemello L, Cecchetto A, et al. Concurrent hepatitis B and C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. A prospective study. *Cancer*. 1994; 74(9): 2442-8.
- 84.** Sanai FM, Benmoussa A, Al-Hussaini H, Ashraf S, Alhafi O, Abdo AA, et al. Is serum alanine transaminase level a reliable marker of histological disease in chronic hepatitis C infection? *Liver Int*. 2008; 28(7):1011-8.
- 85.** Lee YS, Yoon SK, Chung ES, Bae SH, Choi JY, Han JY, et al. The relationship of histologic activity to serum ALT, HCV genotype and HCV RNA titers in chronic hepatitis C. *J Korean Med Sci*. 2001; 16(5):585-91.
- 86.** Serra M.A. Historia natural de la infección por virus C. *Gastroenterol Hepatol*. 2006; 29(Supl 2):101-6.
- 87.** Sandrin L., Fourquet B., Hasquenoph J.M., Yon S., Fournier C., Mal F., et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29(12):1705-1713.
- 88.** Sporea I., Popescu A., Sirlu R. Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2008;14(21):3396-3402.
- 89.** Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24(2):289-293.
- 90.** Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-5.
- 91.** Ishak KG. Chronic hepatitis: morphology and nomenclature. *Mod Pathol*. 1994; 7(6):690-713.
- 92.** Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94(9): 2467-74.
- 93.** Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(10):2614-8.

94. Guido M, Rugge M. Liver biopsy sampling in chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis.* 2004;24(1):89-97.
95. Poynard T, Ratziu V, Bedossa P. Appropriateness of liver biopsy. *Can J Gastroenterol.* 2000;14(6):543-8.
96. Wright M, Goldin R, Fabre A, Lloyd J, Thomas H, Trepo C, et al. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut.* 2003;52(4):574-9.
97. Khouri ST, Perez RM, de Oliveira PM, Figueiredo VM, Barbosa DV, Lanzoni VP, et al. Rebiopsy in patients with untreated hepatitis C: a useful procedure. *J Clin Gastroenterol.* 2006;40(4):347-52.
98. Boccato S, Pistis R, Noventa F, Guido M, Benvegnù L, Alberti A. Fibrosis progression in initially mild chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2006; 13(5):297-302.
99. Carrión J.A, Colmenero J, Bataller R, Forns X. Diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol.* 2007; 30(Supl 1):106-112.
100. Bonekamp S, Kamel I, Solga S, Clark J. Can imaging modalities diagnose and stage hepatic fibrosis and cirrhosis accurately? *J Hepatol.* 2009;50(1):17-35.
101. Talwalkar J.A, Yin M, Fidler J, Sanderson S.O, Kamath P.S, Ehman R.. Magnetic resonance imaging of hepatic fibrosis: emerging clinical applications. *Hepatology.* 2008; 47(1):332-342.
102. Yin M., Talwalkar J.A, Glaser K.J, Manduca A, Grimm R.C, Rossmann P.J, et al.. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5(10):1207-13.
103. Asensio del Barrio C, Polo de Santos M. M., Luengo Matos S, Sánchez Gómez L, Alcázar Alcázar R. "Elastografía de Transición (FibroScan®) en el diagnóstico de fibrosis hepática: revisión sistemática y meta-análisis". IPE 59/09. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (AETS) - Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación. Madrid. 2009.
104. Beaugrand M. Fibroscan: instructions for use. *Gastroenterol Clin Biol.* 2006; 30(4):513-14.
105. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol.* 2008; 48(5):835-47.
106. Yoshioka K, Kawabe N, Hashimoto S. Transient elastography: Applications and limitations. *Hepatol Res.* 2008; 38(11):1063-68.
107. Gómez-Dominguez E, Mendoza J, Rubio S, Moreno-Montegudo J.A, García-Buey L, Moreno-Otero R. Transient elastography: a valid alternative to biopsy in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24(3):513-18.
108. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le B.B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;128(2):343-50.

- 109.** Foucher J, Castera L, Bernard P.H, Adhoute X, Laharie D, Bertet J, et al. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 18(4):411-12.
- 110.** Solà Lamoglia R. Control de las variaciones en la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol.* 2009; 32 (Espec Congr 1):11-6.
- 111.** Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hézode C, Oh E, Smith KM, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate to advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2004;41(6):935-42.
- 112.** Forns X, Ampurdanès S, Llovet JM, Aponte J, Quintó L, Martínez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology.* 2002; 36(4 Pt 1): 986-92.
- 113.** Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38(2):518-26.
- 114.** Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort. *Hepatology.* 2005; 42(2):282-92.
- 115.** Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al; APRICOT Clinical Investigators. Development Of A Simple Non-Invasive Index To Predict Significant Fibrosis In Patients With HIV-HCV Coinfection. *Hepatology.* 2006; 43(6):1317-25.
- 116.** Vallet-Pichard A, Mallet V, Pol S. FIB-4: a simple, inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV-infected patients. *Hepatology.* 2007; 46(1):32-6.
- 117.** Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2007; 45(2):297-306.
- 118.** Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T; MULTIVIRC Group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet.* 2001; 357(9262):1069-75.
- 119.** Calès P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konaté A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology.* 2005; 42(6):1373-81.
- 120.** Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem.* 2005; 51(10):1867-73.
- 121.** Mellor CS. Normogram for calculating mass of alcohol in different beverages. *Br Med J.* 1970; Suppl 2:703.
- 122.** Miller WR, Heather N, Hall W. Calculating standard drink units: international comparisons. *Br J Addict.* 1991; 86(1): 43-47.

123. Gómez M, Cuenca B. Hepatopatía difusa e hipertensión portal. En: Segura Cabral J.M, editor. Ecografía digestiva. Madrid: Ediciones de la Universidad Autónoma de Madrid; 2011.p. 91-112.
124. Forner A, Ayuso C, Isabel Real M, Sastre J, Robles R, Sangro B, et al. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma *Med Clin(Barc)*.2009;132(7):272–287.
125. ARCHITECT Anti-HCV assay (ABBOTT Diagnostics Division). REF 6C37.
126. Cobas ® Ampliprep / Cobas® Taqman HCV test (Roche Diagnostics S.L). P/N: 03568547 190.
127. LINEAR ARRAY HCV Genotyping Test (Roche Diagnostics, S.L). P/N: 04391837 190.
128. Sánchez-Cantalejo Ramírez E. Repercusión logística en Salud Pública. Granada: Escuela Andaluza de Salud Pública. Monografías. 2000; núm. 26.
129. Munro BH. *Statistical Methods for Health Care Research*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004.
130. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication. Updated October 2005. [Internet]. *CMJE*; 2005 [acceso 17 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.icmje>.
131. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2007; 13 (17): 2436-2441.
132. Sacristán B, Gastanares MI, Elena A, Sacristán M, Barcenilla J, García JC, et al. Infección por el virus de la hepatitis C. Seroepidemiologic study of hepatitis C virus infection in a general population from the region of La Rioja, Spain. *Med Clin (Barc)*. 1996; 107(9):331-5.
133. García-Fulgueiras A, Tormo MJ, Rodríguez T, Pérez-Flores D, Chirlaque D, Navarro C, et al. Prevalence of hepatitis B and C markers in the South East of Spain: an unlinked community-based survey of 2203 adults. *Scand J Infect Dis*. 1996; 28(1):17-20.
134. Domínguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Community-based seroepidemiological survey of HCV infection in Catalonia, Spain. *J Med Virol*. 2001; 65(4):688-93.
135. Riestra S, Fernández E, Leiva P, García S, Ocio G, Rodrigo L. Prevalence of hepatitis C virus infection in the general population of Northern Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001;13(5): 477-81.
136. Chimeno MM, Chocarro A, Brezmes P, Ochoa C, Pérez J. Seroprevalence of hepatitis C virus in the general population. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002; 20 (2):64-7.
137. Solá R, Cruz de Castro E, Hombrados M, Planas R, Coll S, Jardí R, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C viruses in different counties of Catalonia, Spain: cross-sectional study. *Med Clin (Barc)*. 2002; 119(3):90-5.

- 138.** Prieto Domingo JJ, Carrión Bolaños JA, Bandrés Moya F. Prevalence of hepatitis C virus and excessive consumption of alcohol in a nonhospital worker population. *Gastroenterol Hepatol.* 1997; 20(10):479-83.
- 139.** Montes Martínez I, Agulla Budino A. Prevalencia de anticuerpos antiviral de la hepatitis A, B y C en población rural infantil del norte de Extremadura. *An Esp Pediatr.* 1996; 45:133-6.
- 140.** Gil Miguel A, Ruedas A, Santos Santos M, Rey Calero YJ. Prevalence of hepatitis C virus infection in school children in an urban and suburban area of Madrid. *Aten Primaria.* 1996; 17(8):521-2.
- 141.** Martínez Pérez JA, Gomeno Fernández C, González Praetorius A, Gascuena Luengo M, Calvo Orduna MJ, Caballero Moreno L. Seroprevalence of three types of hepatotropic virus in a population of adolescents of the province of Guadalajara. *Rev Esp Salud Pública.* 2001; 75(2):151-7.
- 142.** Salleras L, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Domínguez A, Navas E, et al. Seroepidemiología de la infección por el virus de la hepatitis C en las mujeres embarazadas de Cataluña. *Med Clin (Barc).* 1994; 103:721-4.
- 143.** Salmerón J, Giménez F, Torres C, Ros R, Palacios A, Quintero D, et al. Epidemiología y prevalencia de seropositividad para el virus de la hepatitis C en mujeres embarazadas de Granada. *Rev Esp Enfem Dig.* 1998; 90:841-50.
- 144.** Suárez González A, Solís Sánchez G, Otero Guerra L, Viejo de la Guerra G, Álvarez Navascués C, García López R. Prevalencia de marcadores frente a los virus A, B y C de la hepatitis en la población de Gijón entre 25 y 65 años de edad. *Gastroenterol Hepatol.* 2004; 27:347-52.
- 145.** Gutiérrez-Zufiaurre N, Sánchez-Hernandez J, Muñoz S, Marín R, Delgado N, Sáenz MC, et al. Seroprevalence of antibodies against *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, rubella virus, hepatitis B and C virus, and HIV in pregnant women. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004; 22(9):512-6.
- 146.** Murcia J, Portilla J, Bedia M, Palazón J.M, Sánchez-Payá J, Saiz de la Hoya P et al. Infección crónica por el virus de la hepatitis C y enfermedad hepática asociada en una prisión española. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009; 27 (4):206–212.
- 147.** Martínez-Bauer E, Forns X, Armelles M, Planas R, Solà R, Vergara M, et al; Spanish Acute HCV Study Group. Hospital admission is a relevant source of hepatitis C virus acquisition in Spain. *J Hepatol.* 2008; 48 (1):20-7.
- 148.** Pérez-Álvarez R, García-Samaniego J, Solà R, Pérez-López R, Bárcena R, Planas R et al. Hepatitis aguda C en España: estudio retrospectivo de 131 casos. *Rev Esp Enferm Dig.* 2012; 104(1): 21-28.
- 149.** Rodríguez JC, García J, Moya I, Ayelo A, Vázquez N, Sillero C, et al. Genetic variability of hepatitis C virus in the health area of Elche (Spain). Correlation between core antigen and viral load. *Gastroenterol Hepatol.* 2003; 26(7): 407-10.

- 150.** Echevarría JM, León P, Pozo F, Avellón A. Follow-up of the prevalence of hepatitis C virus genotypes in Spain during a nine-year period (1996-2004). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006;24(1):20-5.
- 151.** Yamada G, Tanaka E, Miura T, Kiyosawa K, Yano M, Matsushima T, et al. Epidemiology of genotypes of hepatitis C virus in Japanese patients with type C chronic liver diseases: a multi-institution analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 1995; 10(5):538-45.
- 152.** Khattab MA, Eslam M, Aly MM, Shatat M, Mousa YI, Abd-Aalhalim H, et al. Serum lipids and chronic hepatitis C genotype 4: interaction and significance. *Ann Hepatol.* 2012; 11(1):37-46.
- 153.** Ali A, Nisar M, Ahmad H, Saif N, Idrees M, Bajwa MA. Determination of HCV genotypes and viral loads in chronic HCV infected patients of Hazara Pakistan. *Virology.* 2011; 8:466.
- 154.** Abraham R, Ramakrishna B, Balekuduru A, Daniel HD, Abraham P, Eapen CE, Kurian G. Clinicopathological features and genotype distribution in patients with hepatitis C virus chronic liver disease. *Indian J Gastroenterol.* 2009;28(2):53-8.
- 155.** Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: An updated meta-analysis. *Hepatology.* 2011;53(3):726-736.
- 156.** Romero Gómez M, Ramírez Martín del Campo M, Otero MA, Vallejo M, Corpas R, Castellano-Megías VM. Comparative study of two models that use biochemical parameters for the non-invasive diagnosis of fibrosis in patients with hepatitis C. *Med Clin (Barc).* 2005;124 (20):761-4.
- 157.** Park GJ, Lin BP, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000; 15 (4): 386-90.
- 158.** Imperiale TF, Said AT, Cummings OW, Borns LJ. Need for validation of clinical decision aids: use of the AST/ALT ratio in predicting cirrhosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2000;95 (9):2328-32.
- 159.** Sheth S G, Flamm S L, Gordon F D, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 1998; 93 (1): 44-8.
- 160.** Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med.* 2003; 163 (2): 218-24.
- 161.** Sud A, Hui JM, Farrell GC, Bandara P, Kench JG, Fung C, et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology.* 2004;39(5):1239-47.

- 162.** Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004; 127 (6): 1704-13.
- 163.** Ganne-Carrié N, Ziol M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, et al. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology*. 2006;44(6):1511-7.
- 164.** Kazemi F, Kettaneh A, N'kontchou G, Pinto E, Ganne-Carrié N, Trinchet JC, et al. Liver stiffness measurement selects patients with cirrhosis at risk of bearing large oesophageal varices. *J Hepatol*. 2006;45(2):230-5.
- 165.** Vizzutti F, Arena U, Romanelli RG, Rega L, Foschi M, Colagrande S, et al. Liver stiffness measurement predicts severe portal hypertension in patients with HCV-related cirrhosis. *Hepatology*. 2007;45(5):1290-7.
- 166.** Bourliere M, Penaranda G, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal I, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat*. 2006; 13(10):659-70.
- 167.** Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, et al. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatology*. 2006;44(4):686-93.
- 168.** Castéra L, Sebastiani G, Le Bail B, de Lédínghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2010;52(2):191-8.
- 169.** Adler M, Gulbis B, Moreno C, Evrard S, Verset G, Golstein P, et al. The predictive value of FIB-4 versus FibroTest, APRI, FibroIndex and Forns index to noninvasively estimate fibrosis in hepatitis C and nonhepatitis C liver diseases [letter]. *Hepatology*. 2008; 47(2): 762-3.
- 170.** Martínez SM, Domínguez M, Fernández-Varo G, González P, Bataller R, Sampson E, et al. Rendimiento diagnóstico de métodos no invasivos en la evaluación rutinaria de la severidad de la fibrosis en pacientes con hepatitis crónica por virus C. *Gastroenterol Hepatol*. 2008; 31:100-1.
- 171.** González Guilabert MI, Hinojosa Mena-Bernal C, Del Pozo González J, Del Pozo Pérez, MA. Estudio retrospectivo de la capacidad de evaluación de fibrosis hepática del FibroScan®, APRI, FIB-4 y FORNS con referencia a la biopsia hepática de pacientes con hepatitis crónica C, mono y coinfectados con VIH. *Gastroenterol Hepatol*. 2010; 33 (6): 425-32.
- 172.** Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009; 49 (4):1335-74.
- 173.** Portilla J, López-Burgos A, Saiz de la Hoya P, Sánchez-Payá J, Bedía-Collantes M, Farazo-Atienzar I et al. Utilidad de 2 modelos bioquímicos predictivos del grado de

fibrosis hepática en la población penitenciaria con hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol*. 2009; 32 (6):387–394.

174. Poynard T, Ngo Y, Perazzo H, Munteanu M, Lebray P, Moussalli J, et al. Prognostic value of liver fibrosis biomarkers: a meta-analysis. *Gastroenterol Hepatol*. 2011;7(7):445-54.

175. Smith J.O, Sterling R.K. Systematic review: non-invasive methods of fibrosis analysis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009; 30(6):557-76.

176. Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, Alessi N, Attanasio M, Petta S, et al. Comparison of transient elastography (TE) and acoustic radiation force impulse (ARFI) for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2011;106 (12): 2112-20.

177. Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP, Fouchard-Hubert I, Gallois Y, Oberti F, et al. Comparison of Eight Diagnostic Algorithms for Liver Fibrosis in Hepatitis C: New Algorithms Are More Precise and Entirely Noninvasive. *Hepatology*. 2012; 55(1):58-67.

178. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2001; 34(5): 730-9.

179. De Torres M, Poynard T. Risk factors for liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Ann Hepatol*. 2003;2(1):5-11.

180. Camarero C, Ramos N, Moreno A, Asensio A, Mateos ML, Roldan B. Hepatitis C virus infection acquired in childhood. *Eur J Pediatr*. 2008;167(2):219-24.

181. Barshes NR, Udell IW, Lee TC, O'Mahony CA, Karpen SJ, et al. The natural history of hepatitis C virus in pediatric liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2006; 12(7): 1119-23.

182. Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004;53(3):451-5.

183. Cholet F, Nousbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauvin JM, Lagarde N, et al. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol*. 2004; 28 (3):272-8.

184. Gramenzi A, Conti F, Felling F, Cursaro C, Riili A, Salerno M, et al. Hepatitis C Virus-related chronic liver disease in elderly patients: an Italian cross-sectional study. *J Viral Hepat*. 2010;17(5):360-6.

185. Ahmed AM, Hassan MS, Abd-Elsayed A, Hassan H, Hasanain AF, Helmy A. Insulin resistance, steatosis, and fibrosis in Egyptian patients with chronic Hepatitis C virus infection. *Saudi J Gastroenterol*. 2011; 17 (4):245-51.

186. Patel K, Thompson AJ, Chuang WL, Lee CM, Peng CY, Shanmuganathan G, et al. Insulin resistance is independently associated with significant hepatic fibrosis in Asian

- chronic hepatitis C genotype 2 or 3 patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011; 26(7):1182-8.
- 187.** Forde KA, Reddy KR. Hormones: a potential explanation for differences in response rates to therapy for chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology.* 2011;140(3):776-9.
- 188.** Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. Irish Hepatology Research Group. *N Engl J Med.*1999; 340(16):1228–33.
- 189.** Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology.* 2000;32 (1):91–6.
- 190.** Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol.* 2001;35(4):531–7.
- 191.** Bochud PY, Cai T, Overbeck K, Bochud M, Dufour JF, Müllhaupt B, et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2009; 51(4):655-66.
- 192.** Matsumura H, Moriyama M, Goto I, Tanaka N, Okubo H, Arakawa Y. Natural course of progression of liver fibrosis in Japanese patients with chronic liver disease type C--a study of 527 patients at one establishment. *J Viral Hepat.* 2000; 7(4):268-75.
- 193.** Rigamonti C, Andorno S, Maduli E, Capelli F, Boldorini R, Sartori M. Gender and liver fibrosis in chronic hepatitis: the role of iron status. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 21(12):1445-51.
- 194.** Di Martino V, Lebray P, Myers RP, Pannier E, Paradis V, Charlotte F, et al. Progression of Liver Fibrosis in Women Infected With Hepatitis C: Long-Term Benefit of Estrogen Exposure. *Hepatology.* 2004; 40(6):1426-33.
- 195.** Villa E, Karampatou A, Cammà C, Di Leo A, Luongo M, Ferrari A, et al. Early Menopause Is Associated With Lack of Response to Antiviral Therapy in Women With Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology.* 2011; 140(3):818-29.
- 196.** Codes L, Asselah T, Cazals-Hatem D, Tubach F, Vidaud D, Paraná R, et al. Liver fibrosis in women with chronic hepatitis C: evidence for the negative role of the menopause and steatosis and the potential benefit of hormone replacement therapy. *Gut.* 2007; 56(3):390-5.
- 197.** Yamada M, Kakumu S, Yoshioka K, Higashi Y, Tanaka K, Ishikawa T, Takayanagi M. Hepatitis C virus genotypes are not responsible for development of serious liver disease. *Dig Dis Sci.* 1994; 39(2):234-9.
- 198.** Benvegn  L, Pontisso P, Cavalletto D, Noventa F, Chemello L, Alberti A. Lack of correlation between hepatitis C virus genotypes and clinical course of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology.* 1997; 25(1):211-5.

- 199.** Zeuzem S, Franke A, Lee JH, Herrmann G, Ruster B, Roth WK. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates and their correlation to viremia, liver function tests, and histology. *Hepatology*. 1996; 24(5):1003-9.
- 200.** Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Rosario P, Mormone G, et al. Relationship between genotypes of hepatitis C virus and histopathological manifestations in chronic hepatitis C patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 12(3):299-304.
- 201.** Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. 2001; 33(6):1358-64.
- 202.** Livingston SE, Deubner H, Bruden DL, McMahon BJ, Homan CE, Townshend-Bulson LJ, et al. Factors associated with the progression of fibrosis on liver biopsy in Alaska Native and American Indian persons with chronic hepatitis C. *Can J Gastroenterol*. 2010; 24(7):445-51.
- 203.** Zechini B, Pasquazzi C, Aceti A. Correlation of serum aminotransferases with HCV RNA levels and histological findings in patients with chronic hepatitis C: the role of serum aspartate transaminase in the evaluation of disease progression. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 16(9):891-6.
- 204.** Booth JC, Foster GR, Kumar U, Galassini R, Goldin RD, Brown JL, et al. Chronic hepatitis C virus infections: predictive value of genotype and level of viraemia on disease progression and response to interferon alpha. *Gut*. 1995; 36(3):427-32.
- 205.** Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, Urushihara A, Matsumoto A, Kiyosawa K. The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology*. 1996; 23(4):695-9.
- 206.** Harris HE, Eldridge KP, Harbour S, Alexander G, Teo CG, Ramsay ME; HCV National Register Steering Group*. Does the clinical outcome of hepatitis C infection vary with the infecting hepatitis C virus type? *Viral Hepat*. 2007; 14(3):213-20.
- 207.** Mahaney K, Tedeschi V, Maertens G, Di Bisceglie AM, Vergalla J, Hoofnagle JH, et al. Genotypic analysis of hepatitis C virus in American patients. *Hepatology*. 1994; 20(6):1405-11.
- 208.** Lau JY, Mizokami M, Kolberg JA, Davis GL, Prescott LE, Ohno T, et al. Application of six hepatitis C virus genotyping systems to sera from chronic hepatitis C patients in the United States. *J Infect Dis*. 1995; 171(2):281-9.
- 209.** Probst A, Dang T, Bochud M, Egger M, Negro F, Bochud PY. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression--a systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat*. 2011; 18(11):745-59.
- 210.** Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, Hsu SJ, Chen CL, Hwang JJ, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Association of metabolic profiles with hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 25(5):970-7.

- 211.** Adinolfi LE, Andreana A, Utili R, Zampino R, Ragone E, Ruggiero G. HCV RNA levels in serum, liver, and peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis C patients and their relationship to liver injury. *Am J Gastroenterol.* 1998; 93(11):2162-6.
- 212.** Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Marracino M, Gambardella M, Giordano M, Ruggiero G. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2001; 46(8):1677-83.
- 213.** Wilson LE, Torbenson M, Astemborski J, Faruki H, Spoler C, Rai R, et al. Progression of liver fibrosis among injection drug users with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2006; 43(4):788-95.
- 214.** Gordon SC, Dailey PJ, Silverman AL, Khan BA, Kodali VP, Wilber JC. Sequential serum hepatitis C viral RNA levels longitudinally assessed by branched DNA signal amplification. *Hepatology.* 1998; 28(6):1702-6.
- 215.** Sato S, Genda T, Hirano K, Tsuzura H, Kanemitsu Y, Narita Y, et al. Differences in the factors associated with serum viral load between genotypes 1 and 2 in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Int.* 2011 Apr 2. [Epub ahead of print].
- 216.** Ratziu V, Munteanu M, Charlotte F, Bonyhay L, Poynard T; LIDO Study Group. Fibrogenic impact of high serum glucose in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2003; 39 (6): 1049-55.
- 217.** Jan CF, Chen CJ, Chiu YH, Chen LS, Wu HM, Huang CC, et al. A population-based study investigating the association between metabolic syndrome and hepatitis B/C infection (Keelung Community-based Integrated Screening study No. 10). *Int J Obes (Lond).* 2006;30(5):794-9.
- 218.** Hsu CS, Liu CJ, Liu CH, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Metabolic profiles in patients with chronic hepatitis C: a case-control study. *Hepatol Int.* 2008; 2(2):250-7.
- 219.** El-Zayadi AR, Anis M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to anti viral therapy. *World J Gastroenterol.* 2012;18(3):212-24.
- 220.** Ferrannini E, Natali A, Capaldo B, Lehtovirta M, Jacob S, Yki-Järvinen H. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and blood pressure: role of age and obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Hypertension.* 1997; 30(5):1144-9.
- 221.** Harrison SA. Insulin resistance among patients with chronic hepatitis C: etiology and impact on treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6 (8): 864-76.
- 222.** Romero-Gómez M. Insulin resistance and hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2006; 12 (44): 7075-80.
- 223.** Simó R, Lecube A, Genescà J, Esteban JI, Hernández C. Sustained virological response correlates with reduction in the incidence of glucose abnormalities in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Diabetes Care.* 2006; 29 (11): 2462-6.
- 224.** Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Hirakawa M, Ikeda K, Kumada H. Sustained virological response

- reduces incidence of onset of type 2 diabetes in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009; 49 (3): 739-44.
- 225.** Kawaguchi T, Ide T, Taniguchi E, Hirano E, Ito M, Sumie S, et al. Clearance of HCV improves insulin resistance, beta-cell function, and hepatic expression of insulin receptor substrate 1 and 2. *Am J Gastroenterol*. 2007; 102 (3): 570-6.
- 226.** Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. *Gastroenterology*. 2003; 125 (6): 1695-704.
- 227.** Chen CL, Yang HI, Yang WS, Liu CJ, Chen PJ, You SL, et al. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology*. 2008;135(1): 111-21.
- 228.** Donadon V, Balbi M, Perciaccante A, Casarin P. Insulin Resistance and Hyperinsulinemia in patients with chronic Liver Disease and Hepatocellular carcinoma. *Clinical Medicine: Endocrinology and Diabetes*. 2009; 2: 25-33
- 229.** Mohamed AA, Loutfy SA, Craik JD, Hashem AG, Siam I. Chronic hepatitis c genotype-4 infection: role of insulin resistance in hepatocellular carcinoma. *Virology*. 2011;8:496.
- 230.** Kawaguchi T, Taniguchi E, Morita Y, Shirachi M, Tateishi I, Nagata E, et al. Association of exogenous insulin or sulphonylurea treatment with an increased incidence of hepatoma in patients with hepatitis C virus infection. *Liver Int*. 2010; 30 (3): 479-86.
- 231.** Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2008; 359 (17):1811-21.
- 232.** Edwards NL. The role of hyperuricemia in vascular disorders. *Curr Opin Rheumatol*. 2009; 21(2):132-7.
- 233.** Afzali A, Weiss NS, Boyko EJ, Ioannou GN. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. *Hepatology*. 2010; 52 (2):578-89.
- 234.** Ladero JM, López-Alonso G, Devesa MJ, Cuenca F, Ortega L, Agreda M, et al. Oscillations in serum ferritin associated with antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Rev Esp Enferm Dig*. 2009;101(1):31-40.
- 235.** Fernández Salazar LI, Alvarez Gago LI, Aller de la Fuente R, Orduña Domingo A, Arranz Santos T, de la Calle Valverde F, et al. Iron overload and genotype 3 are associated with liver steatosis in chronic hepatitis C. *Rev Esp Enferm Dig*. 2004;96(12):818-28.
- 236.** Lin TJ, Liao LY, Lin SY, Lin CL, Chang TA. Influence of iron on the severity of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 (30):4897-901.
- 237.** Takikawa T, Hayashi H, Nishimura N, Yano M, Isomura T, Sakamoto N. Correlation between serum levels of alanine aminotransferase and ferritin in male blood donors with antibody to hepatitis C virus. *J Gastroenterol*. 1994; 29(5): 593-7.

- 238.** Fujita N, Sugimoto R, Urawa N, Araki J, Mifuji R, Yamamoto M, et al. Hepatic iron accumulation is associated with disease progression and resistance to interferon/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22(11): 1886–93.
- 239.** Pianko S, McHutchison JG, Gordon SC, Heaton S, Goodman ZD, Patel K, et al. Hepatic iron concentration does not influence response to therapy with interferon plus ribavirin in chronic HCV infection. *J. Interferon Cytokine Res.* 2002; 22(4): 483–9.
- 240.** Hofer H, Osterreicher C, Jessner W, Penz M, Steindl-Munda P, Wrba F, et al. Hepatic iron concentration does not predict response to standard and pegylated-IFN/ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2004; 40(6): 1018–22.
- 241.** Rulyak SJ, Eng SC, Patel K, McHutchison JG, Gordon SC, Kowdley KV. Relationships between hepatic iron content and virologic response in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin. *Am. J. Gastroenterol.* 2005; 100(2): 332-7.
- 242.** Lange CM, Kutalik Z, Morikawa K, Bibert S, Cerny A, Dollenmaier G, et al. Serum ferritin levels are associated with a distinct phenotype of chronic hepatitis C poorly responding to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy. *Hepatology.* 2012; 55(4):1038-47.
- 243.** Desai TK, Jamil LH, Balasubramaniam M, Koff R, Bonkovsky HL. Phlebotomy improves therapeutic response to interferon in patients with chronic hepatitis C: a meta-analysis of six prospective randomized controlled trials. *Dig Dis Sci.* 2008; 53(3):815-22.
- 244.** Siagris D, Christofidou M, Theocharis GJ, Pagoni N, Papadimitriou C, Lekkou A, et al. Serum lipid pattern in chronic hepatitis C: histological and virological correlations. *J Viral Hepat.* 2006;13(1):56-61.
- 245.** Ramcharran D, Wahed AS, Conjeevaram HS, Evans RW, Wang T, Belle SH, et al. Serum lipids and their associations with viral levels and liver disease severity in a treatment-naïve chronic hepatitis C type 1-infected cohort. *J Viral Hepat.* 2011;18(4):e144-52.
- 246.** Marzouk D, Sass J, Bakr I, El Hosseiny M, Abdel-Hamid M, Rekacewicz C, et al. Metabolic and cardiovascular risk profiles and hepatitis C virus infection in rural Egypt. *Gut.* 2007; 56(8):1105-10.
- 247.** Roed T, Lebech AM, Kjaer A, Weis N. Hepatitis C virus infection and risk of coronary artery disease: a systematic review of the literature. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2012; 32(6):421-30.
- 248.** Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2006; 44(1 Suppl):S19-24.

- 249.** Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*. 2004; 39(4):1147-71.
- 250.** Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med*. 2002; 137(1):1-10.
- 251.** Puoti C, Castellacci R, Montagnese F, Zaltron S, Stornaiuolo G, Bergami N, et al. Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). *J Hepatol*. 2002; 37(1):117-23.
- 252.** Kyrklagkisis I, Portmann B, Smith H, O'Grady J, Cramp ME. Liver histology and progression of fibrosis in individuals with chronic hepatitis C and persistently normal ALT. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98(7):1588-93.
- 253.** Sanai FM, Helmy A, Dale C, Al-Ashgar H, Abdo AA, Katada K, et al. Updated thresholds for alanine aminotransferase do not exclude significant histological disease in chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2011; 31(7):1039-46.
- 254.** Puoti C, Guarisco R, Spilabotti L, Bellis L, Mitidieri Costanza O, Dell'Unto O, et al. Should we treat HCV carriers with normal ALT levels? The '5Ws' dilemma. *J Viral Hepat*. 2012;19(4):229-35.
- 255.** Assy N, Minuk GY. Serum aspartate but not alanine aminotransferase levels help to predict the histological features of chronic hepatitis C viral infections in adults. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95(6):1545-50.
- 256.** Al Ashgar H, Helmy A, Khan MQ, Al Kahtani K, Al Quaiz M, Rezeig M, et al. Predictors of sustained virological response to a 48-week course of pegylated interferon alfa-2a and ribavirin in patients infected with hepatitis C virus genotype 4. *Ann Saudi Med*. 2009; 29(1):4-14.
- 257.** Silva IS, Ferraz ML, Perez RM, Lanzoni VP, Figueiredo VM, Silva AE. Role of gamma-glutamyl transferase activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 19(3):314-8.
- 258.** Hwang SJ, Luo JC, Lai CR, Chu CW, Tsay SH, Lu CL, et al. Clinical, virologic and pathologic significance of elevated serum gamma-glutamyl transpeptidase in patients with chronic hepatitis C. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 2000; 63(7):527-35.
- 259.** Benini F, Pigozzi MG, Baisini O, Romanini L, Ahmed H, Pozzi A, et al. Increased serum gamma-glutamyl-transpeptidase concentration is associated with nonalcoholic steatosis and not with cholestasis in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(10):1621-6.
- 260.** Fontana RJ, Dienstag JL, Bonkovsky HL, Sterling RK, Naishadham D, Goodman ZD, et al. Serum fibrosis markers are associated with liver disease progression in non-responder patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 2010; 59(10):1401-9.

261. Louie KS, Micallef JM, Pimenta JM, Forssen UM. Prevalence of thrombocytopenia among patients with chronic hepatitis C: a systematic review. *J Viral Hepat.* 2011; 18(1):1-7.
262. Giannini EG, Savarino V. Further insights into the causes of thrombocytopenia in chronic hepatitis C. *J Gastrointest Liver Dis.* 2010;19(4):357-8.
263. Karasu Z, Tekin F, Ersoz G, Gunsar F, Batur Y, Ilter T, et al. Liver fibrosis is associated with decreased peripheral platelet count in patients with chronic hepatitis B and C. *Dig Dis Sci.* 2007; 52(6):1535-9.
264. Adinolfi LE, Giordano MG, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Cesaro G, et al. Hepatic fibrosis plays a central role in the pathogenesis of thrombocytopenia in patients with chronic viral hepatitis. *Br J Haematol.* 2001; 113(3):590-5.
265. Osada M, Kaneko M, Sakamoto M, Endoh M, Takigawa K, Suzuki-Inoue K, et al. Causes of Thrombocytopenia in Chronic Hepatitis C Viral Infection. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2012; 18 (3):272-80.
266. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2001; 34:809-16.
267. Yano M, Yatsushashi H, Inoue O, Inokuchi K, Koga M. Epidemiology and long term prognosis of hepatitis C virus infection in Japan. *Gut.* 1993; 34(2 Suppl):S13-6.
268. Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, Crovatto M, Crocè LS, Mazzoran L, et al. Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. *Gut.* 1999; 44(6):874-80.
269. Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. The Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. *Hepatology.* 1997; 26(2):485-90.
270. Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban JI, Weiland O, Marcellin P, et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology.* 2002; 36(4 Pt 1):973-7.
271. Reedy DW, Loo AT, Levine RA. AST/ALT ratio \geq 1 is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 1998; 43(9):2156-9.
272. Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med.* 2011; 365(2):147-56.
273. Myers RP, De Torres M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Charlotte F, Poynard T; MULTIVIRC Group. Biochemical markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a comparison with prothrombin time, platelet count, and age-platelet index. *Dig Dis Sci.* 2003; 48(1):146-53.
274. Siddiqi AI, Siddiqeh M, Mehmood A, Siddiqui AM. Alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase ratio reversal and prolonged prothrombin

- time: a specific indicator of hepatic cirrhosis. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2007; 19(3):22-4.
- 275.** Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004; 127(5 Suppl 1):S35-50.
- 276.** Varela M, Reig M, Mata M, Matilla A, Bustamante J, Pascual S, et al. Tratamiento del carcinoma hepatocelular en España. Análisis de 705 casos en 62 centros. *Med Clin (Barc)*. 2010;134: 569-76.
- 277.** Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, Arakawa Y, Ide T, Sata M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Ann Intern Med*. 1999; 131(3):174-81.
- 278.** Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology*. 1997; 112(2): 463-72.
- 279.** Degos F, Christidis C, Ganne-Carrie N, Farmachidi JP, Degott C, Guettier C, et al. Hepatitis C virus related cirrhosis: time to occurrence of hepatocellular carcinoma and death. *Gut*. 2000; 47(1):131-6.
- 280.** Fattovich G, Ribero ML, Pantalena M, Diodati G, Almasio P, Nevens F, et al. Hepatitis C virus genotypes: distribution and clinical significance in patients with cirrhosis type C seen at tertiary referral centres in Europe. *J Viral Hepat*. 2001; 8(3):206-16.
- 281.** Bruno S, Silini E, Crosignani A, Borzio F, Leandro G, Bono F, et al. Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology*. 1997; 25 (3):754-8.
- 282.** Bruno S, Crosignani A, Maisonneuve P, Rossi S, Silini E, Mondelli MU. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a seventeen-year prospective cohort study. *Hepatology*. 2007; 46(5):1350-6.
- 283.** Tanaka K, Ikematsu H, Hirohata T, Kashiwagi S. Hepatitis C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma among Japanese: possible role of type 1b infection. *J Natl Cancer Inst*. 1996; 88(11):742-6.
- 284.** Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2009; 136(1):138-48.
- 285.** Sarma MP, Asim M, Medhi S, Bharathi T, Kar P. Hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma: A case control study from India. *J Med Virol*. 2012; 84 (7):1009-17.

